Aus der
Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt Schleißheim.
(Direktor: Professor Dr. Beck)

Die keimtötende Wirkung des carbolisierten Serums aphthenseucherekonvaleszenter Rinder für Brucella abortus Bang.

*

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München.

Vorgelegt von
Rudolf Grözinger
aus Hochdorf, Kr. Vaihingen/Enz

München 1938

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert, Quakenbrück.

Aus der
Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt Schleißheim.
(Direktor: Professor Dr. Beck)

Die keimtötende Wirkung des carbolisierten Serums aphthenseucherekonvaleszenter Rinder für Brucella abortus Bang.

*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München.

Vorgelegt von
Rudolf Grözinger
aus Hochdorf, Kr. Vaihingen/Enz

München 1938

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert, Quakenbrück.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.

Referent: Professor Dr. B e c k.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
und Geschwistern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554005_0042

Einleitung.

Der große Bedarf an Rekonvaleszentenserum bei schwereren Maul- und Klauenseuchezügen zur Durchführung von Schutz- und Simultanimpfungen zwingt dazu, in erster Linie die größeren Rinderbestände für die Gewinnung des erforderlichen Blutes heranzuziehen. Bei der weiten Verbreitung des seuchenhaften Verwerfens gerade in den größeren Rinderbeständen kann mit Recht das Bedenken erhoben werden, daß durch die Verimpfung des Rekonvaleszentenserums aus derartigen Beständen eine Weiterverschleppung der Banginfektion des Rindes stattfinden kann.

Das Auftreten von Nachkrankheiten im Anschluß an die Maul- und Klauenseuche ist eine bekannte Tatsache. Neben der Tuberkulose kann auch die Banginfektion in durchseuchten Beständen erneut aufflackern. Es besteht somit die Möglichkeit, daß bei Maul- und Klauenseuche-Rekonvaleszenten eine gelegentliche Ueberschwemmung des Blutes mit Brucella abortus Bang erfolgt, und daß in solchen Fällen mit Rekonvaleszentenserum auch Keime übertragen werden, die unter Umständen zu einer Infektion des geimpften Tieres führen. Diese Gefahr ist um so größer, je rascher das Rekonvaleszentenserum wieder verimpft wird. In diesem Falle fehlt es den Konservierungsmitteln an einer genügenden Einwirkungsmöglichkeit.

Um diese Fragen zu klären, erhielt ich die Aufgabe, festzustellen, ob Brucella abortus Bang im Rekonvaleszentenserum des Rindes vorkommt und ob die bakterizide Wirkung von konserviertem Rekonvaleszentenserum eine sichere Abtötung der Bangbakterien gewährleistet.

Schrifttum.

a) Natürliche Ansteckung.

Verhältnismäßig frühzeitig wurden auf dem Gebiet der Tierheilkunde Versuche angestellt, wie das Abortus Bang-Bakterium von Tier zu Tier übertragen und wie es im Tierkörper zu den einzelnen Organen gelangt. So hat B a n g [1906] (2) durch intravenöse Injektionen und Fütterungsversuche wiederholt trächtige Tiere infiziert und dadurch Verwerfen hervorgerufen. Das Bang-Bakterium wurde in jedem Fall

aus dem Darminhalt, in einigen Fällen aus dem Blut, aus verschiedenen Organen des Fetus und außerdem aus dem Chorion gezüchtet.

Hierdurch war zum erstenmal bewiesen, daß die Bakterien durch den Blutstrom in den Uterus gebracht werden und damit im Blute selbst vorkommen können.

Good [1913] (14) findet die gleichen Ergebnisse in drei Fällen von Fetenuntersuchungen.

Erst sehr viel später, im Jahre 1932, gelingt es Tartarano (39) bei einer von mehreren mit Abortus-Bang natürlicherweise infizierten Kühen, deren Sera mit dem Titer 1:100 bis 1:1000 agglutinierten, eine positive Blutkultur anzulegen.

Lübke (27) war der nächste im Jahre 1935, der bei 4 von 68 natürlicherweise mit Bang infizierten Kühen über den Meerschweinchen-Impfversuch (Impfdosis 5 ccm 0,5 % Zitratblut) aus dem Blut den Erreger nachweisen konnte.

Die Meerschweinchen zeigten jedoch erst bei der 3. Blutuntersuchung (75 Tage nach der Impfung) einen Titer von 100 und darüber. Es ist daraus zu schließen, daß nur eine relativ kleine Menge von für Meerschweinchen virulenten Bangbakterien im Blute kreiste. Hervorzuheben ist, daß, wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, lediglich auf Grund der serologischen Blut- und Milchbefunde 3 von diesen Tieren wohl nicht als banginfiziert angesehen worden wären.

Fitch, C. P. Bihop, Lucille, M. und Kelly, Margaret, D. (11) bestätigen, daß Abortus-Bakteriämie bei schon länger bestehender Bangkrankheit selten ist.

Eine größere Arbeit über das Vorkommen des Bakteriums abortus Bang im Blut erschien im Jahre 1929 von Frieß (12), der 131 positiv agglutinierende Rinderblutproben mikroskopisch, kulturell und durch Impfung untersuchte und in keinem Fall ein positives Ergebnis erzielte.

King, M. J. und Caldwell, D. W. (22) untersuchten 151 Milchkühe eines Sanatoriums. Von diesen agglutinierten die Sera im Jahre 1926 56mal mit dem Titer ab 1:20, 26mal fraglich mit dem Titer ab 1:60 und im Jahr 1928 von 118 Kühen 37mal positiv und 10mal fraglich mit Bangbakterien. Die Blutkulturen, soweit angelegt, waren sämtlich negativ.

Krüger (24) stellte fest, ob in den dem Landestierseuchenamt zur Untersuchung auf Banginfektion eingesandten Rinderblutproben mit positivem Agglutinationsergebnis gelegentlich die Erreger des ansteckenden Verkalbens angetroffen werden. Es wurden Blutproben mit einem positiven Agglutinationstiter von 1:100 bis 1:2000 verwendet. Kulturell war der Nachweis von Bangbakterien durch Verunreinigung der Blutproben nicht möglich und die intraperitoneal geimpften Meerschweinchen wurden ebenfalls nicht mit Bang infiziert. Auch glückte es in mehreren Fällen nicht, aus dem strömenden Blut von Rindern mit

positivem Agglutinationsergebnis, die verkalbt hatten, Bangbakterien in Traubenzuckerglyzerinbouillon anzureichern.

Mäder (28) untersuchte 19 bangpositiv agglutinierende Blutproben von natürlicherweise an Bang erkrankten Kühen, auf das Vorhandensein von Abortus-Bang-Bakterien. Sofort nach der Entnahme wurden die nicht geronnenen Blutproben von je 10 ccm bei 3000 Touren zentrifugiert, um die Keime im Zentrifugat anzureichern. Die roten Blutkörperchen wurden mikroskopisch, kulturell, und die weißen mikroskopisch, kulturell und im Meerschweinchenimpfversuch geprüft. Die weißen Blutkörperchen sollten für die Untersuchung besonders geeignet sein, da in ihrem Leib die Abortus-Bangbakterien nach Poppe, Zeller und Ascoli (zit. n. 28) bei Untersuchung von abortusverdächtigem Organ- und Blutmaterial dicht angefüllt gefunden wurden. Der Nachweis der Abortus-Bakterien ist in keinem Fall gelungen.

Cotton (5) berichtete auf dem Tierärztlichen Weltkongreß in New-York 1934 u. a. über das Vorkommen von Brucella abortus in den blutbildenden Organen infizierter Rinder sowie über die diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse. Versuche, die Keime im Blute trächtiger Rinder nachzuweisen, gelangen nicht.

Kurtze, H. (25) untersuchte das Blut von 3000 Schlachtkälbern auf das Vorkommen von Abortus-Bangbakterien. Weder bei den 24 Tieren (8 %) mit positiver Agglutination des Serums noch bei den übrigen konnte ein positiver Bakterienbefund im Blut festgestellt werden.

Fitch (11) erreichte mit Lübkes Methode, zuerst 5 ccm des Rinderblutes Meerschweinchen einzuspritzen und die Bangbakterien dann aus dem Meerschweinchen nachzuweisen, in Fällen, bei denen die direkte Züchtung trotz geringer Zahl von Keimen im Blut gelang, keine positiven Resultate.

Rust (34) untersuchte 32 bangpositiv agglutinierende Seren von Schlachtrindern durch Impfversuch, indem er 61 Meerschweinchen je 3 ccm Blut intraperitoneal injizierte. Das Ergebnis war in jedem Fall ein negatives.

b) Künstliche Infektion.

Wie aus diesen Literaturangaben ersichtlich, ist es nur 2 Forschern in allerjüngster Zeit geglückt, den Nachweis des Bakterium abortus Bang im Rinderblut nach natürlicher Ansteckung zu erbringen.

Seit die Bangkrankheit beim Menschen als solche um das Jahr 1924 erkannt wurde, haben viele medizinische Forscher das Patientenblut durch Blutkultur und Impfversuch an Meerschweinchen geprüft und dabei in überaus zahlreichen Fällen den Erreger züchten können. Ja, der Nachweis des Bangbakteriums aus dem Blut des Menschen gehört heute geradezu zur systematischen Untersuchung auf Bangkrankheit.

Daß dies beim Rinde nicht so ist, liegt vielleicht an der viel schwierigeren Feststellung, die dadurch bedingt ist, daß die durch Brucellabakterien verursachten Erkrankungen in ihrem Krankheitsbild bei Mensch und Tieren sehr verschieden sind. Die menschliche Brucellose ist durch das intermittierende Fieber und dabei relatives Wohlbefinden gekennzeichnet. Bei Tieren ist der Abortus das Hauptsymptom.

Als Beispiel für den Menschen mag die von Fraas (13) beschriebene eigene Bang-Bakterieninfektion gelten. Verfasser infizierte sich beim Impfen mit lebenden Kulturen.

Die Krankheit äußerte sich durch 3 Monate langes Fieber und durch Schweißausbrüche.

Agglutination des Blutes 1:800. Nach 4 Monaten war der Patient wieder arbeitsfähig. Nach 5 Monaten Rückfall mit milderem Verlauf.

Die Bangbakterien sind nach vielen Literaturangaben der Humanmedizin am häufigsten kurz vor oder während eines Fieberanfalles oder im Anfangsstadium der Erkrankung im Blute anzutreffen. Da sich aber beim Rind ein solcher Fieberanfall in den seltensten Fällen nur undeutlich durch höchstens leichte Temperaturschwankungen bemerkbar macht, ist es sehr schwer festzustellen, wann ein Rind zuerst an Abortus-Bang erkrankt ist, und wann im günstigsten Fall eine Bakteriämie mit Bakterium abortus Bang stattfindet.

Um die Verhältnisse beim Rind in dieser Richtung genauer und leichter studieren zu können, wurden von mehreren Forschern natürliche und künstliche Infektionsversuche angestellt.

Durch Nocard (zit. n. 2) angeregt, machte wie bereits erwähnt Bang (2) die ersten derartigen Versuche, wobei ihm der Bangbakteriennachweis im Blut von verworfenen Rinderfeten gelang.

Durch Versuche konnten Bogenschneider, Schermer und Ehrlich sowie Zeller (32) im Blute von mit lebender Kultur subkutan geimpften Rindern die injizierten Bakterien nicht nachweisen.

Oßberger (31) fütterte an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen einem Rind die Abschwemmung von je einer Kolleschale (Traubenzucker-Glyzerinleberagar) Bang'scher Abortusbakterien. Während der Dauer von 150 Tagen wurden täglich ca. 3 ccm Blut aus der Jugularvene auf die Anwesenheit von Bangbakterien untersucht. Diese konnten aber weder mikroskopisch, noch kulturell, noch durch den Impfversuch nachgewiesen werden.

Mäder (28) erbrachte den Bangbakteriennachweis im Blut bei zwei natürlich infizierten Kühen, die zur aktiven Immunisierung mit lebender Kultur geimpft worden waren. 10 ccm Blut wurden jeweils bei einem Temperaturanstieg entnommen und wie bei seinen früheren Versuchen mit natürlich infizierten Rindern untersucht. Der Nachweis gelang über das Meerschweinchen bei beiden Kühen je nur einmal, und zwar am fünften Tag nach der Impfung.

Bei 12 künstlich infizierten Rindern, die bei der vorher vorgenommenen serologischen Untersuchung keine Abortusantikörper im Blut hatten, gelang der Nachweis des Bakterium abortus-Bang nicht.

Schmidt (35) infizierte eine schwarzbunte Niederungskuh im guten Ernährungszustand, die bei der klinischen Untersuchung keinerlei Störungen der Gesundheit erkennen ließ. Auch am Euter konnten keine krankhaften Veränderungen gefunden werden. Blut und Milch waren frei von spezifischen Antikörpern. Der Tierversuch mit Milch verlief ebenfalls negativ.

Zuerst wurde 1 ccm Kulturaufschwemmung von Bakt. abortus Bang und nach 4 Wochen weitere 5 ccm ins Euter gebracht. Bereits am 7. Tage p. i. wies das Serum einen Titer von 1:1000 auf. Dieser stieg bis zum 44. Tag auf 1:4000 und betrug am Ende des Versuches noch 1:3000. Das Blut wurde im Abstand von je 8 Tagen kulturell und durch den Tierversuch auf das Vorkommen von Abortus-Bangbakterien untersucht. In keinem Fall gelang jedoch der Nachweis der Krankheitserreger.

Zeller und Beller (41) konnten bei 8 Jungbullen, die mit 10 ccm 8 Tage lang bebrüteter Aufschwemmung von verschiedenen Bangstämmen in Glyzerintraubenzuckerbouillon subkutan geimpft bzw. mit 1½ Liter dieser Kulturmenge per os infiziert wurden, zwischen dem 10. und 21. Tage nach der Infektion Brucellen im Blut nachweisen.

Büchli (4) impfte 10 junge Färsen, vor dem Decken zuerst mit 10 ccm und 3 Wochen später mit 20 ccm frischer Kultur. Die bakteriologische Untersuchung des Blutes war aber stets negativ.

Cotton (5) gelingt bei 2 natürlich infizierten trächtigen Rindern, welche mit Brucella abortus-Bang geimpft wurden, der Nachweis des Erregers im Blut.

Lübke (27) injizierte 2 Kälbern um die gleiche Zeit je 5 ccm einer dichten Bang-Bakterienaufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung (10 Tage alte bovine Kultur) in die linke Oberschenkelmuskulatur. „Von besonderem Interesse waren die Feststellungen darüber, wie lange die Bang-Bakterien im Körper kreisen würden.“ Bekanntlich vertreten die meisten Autoren die Ansicht, daß nach einer kurz dauernden Bakteriämie in den Geschlechtsorganen eine Lokalisation auftritt. Dafür scheinen auch die negativen Ergebnisse der meisten Autoren (Frieß, Oßberger, Bogenschneider und Krüger, King-Caldwell, Cotton, Kurtze, Mäder, Schermer und Ehrlich, Zwick und Schmidt, Zeller-Beller, Büchli und Lübke) zu sprechen, die das Blut infizierter Rinder auf Bang-Bakterien untersuchten.

Um den Nachweis möglichst sicher zu gestalten, wurde 0,5%iges Natrium-Citratblut kulturell und auch im Tierversuch verarbeitet, und zwar wurden jedesmal 5 Röhrchen mit 1%iger Traubenzuckerlösung

mit 2 ccm Blut versetzt und 1—3 Wochen lang in Rex-Töpfen unter mehrmaliger Kontrolle bebrütet, außerdem je 1 ccm Blut mit Staffseth-Agar zu 4 Platten ausgegossen und schließlich 5 ccm Citratblut an je 1 Meerschweinchen bei dem durch Herzpunktion vorher das Fehlen von Bangagglutininen festgestellt war, intramuskulär in beide Oberschenkel verimpft. Der Bluttiter der Impftiere wurde 3—4mal, zuletzt am Tage der in der Regel nach 10—12 Wochen vorgenommenen Tötung festgestellt.

Die kulturelle Züchtung aus dem Kälberblut hatte durchwegs ein negatives Resultat und wurde deshalb in den letzten Monaten der Beobachtungsdauer nicht mehr ausgeführt.

Bemerkenswert ist, daß die Züchtung der Bang-Bakterien aus Milz und Knochenmark der infizierten Meerschweinchen nur Agglutinine in geringer Menge gebildet waren, makroskopische Organveränderungen aber fehlten. Es ist anzunehmen, daß Bakterien an diesen Tagen nur in spärlicher Menge im Blut der Bangkälber kreisten, zum Teil vielleicht auch eine geringere Virulenz besaßen.

Eine Bang-Bakteriämie konnte also während der ersten Infektionswoche bei beiden Kälbern, außerdem bei dem ersten Kalbe nach 3 Wochen und 2 Monaten, bei dem zweiten Kalbe nach 2½ Monaten festgestellt werden. Es ist sowohl möglich, daß es sich hier um Bakterienschübe durch Einbruch der Bakterien in die Blutbahn von irgendwelchen Organen aus handelte, als auch daß die Bakterien nie restlos aus dem Kreislauf verschwanden und nur wegen ihrer geringen Menge dem Nachweis, der schon durch die zahlreichen interkurrenten Todesfälle erschwert war, entgingen."

Ein Jahr später stellte L ü b k e (26), außer den bereits früher schon erwähnten Versuchen über das Vorkommen von Bangbakterien im Blut natürlicherweise verseuchter Kühe, Versuche bei 21 künstlich infizierten Rindern an. Zur Verfügung standen 4 Versuchskühe und 14 Tiere, die im September 1933 mit lebenden Bangbakterien geimpft waren. Sämtliche Tiere verkalbten bzw. litten sie an Retentio, Metritis und Sterilität.

Von jeder Kuh wurde das Blut auf Bakterien-Agglutinine und Ambozeptoren, die Milch auf Bakterien und Agglutinine untersucht. Je 5 ccm von 0,5%igem Zitratblut wurden i.m. an 1 bis 2 Meerschweinchen verimpft (Impfverluste bei der recht großen Impfdosis 1,9 %). Von 17 Kühen schieden 14 Bangbakterien mit der Milch aus.

In 2—3wöchentlichen Abständen wurde die Agglutination des Blutserums 4—5mal, insgesamt 75mal, ausgeführt. Mit einer Ausnahme überschritten die Werte bei allen Tieren die Titerhöhe von 1:50.

Bei 15 Kühen wurde Bangbakteriämie festgestellt und zwar nur an einem Teil der Untersuchungstage.

Einen interessanten Ausnahmefall bildete eine Kuh, bei der lediglich die Bakteriämie die Banginfektion erkennen ließ.

Bei den Versuchskühen waren die serologischen Blut- und Milchbefunde ohne Besonderheiten. 2 Tiere waren Ausscheider. Bei allen 4 Kühen wurden, wenn auch nicht regelmäßig (in 10 von 20 Proben), Bangbakterien im Blute festgestellt.

c) Baktericidie des conservierten Rinderserums.

Sind Bangbakterienbefunde im Blute des Rindes nach natürlicher und künstlicher Ansteckung im Verhältnis zu den Nachweisen beim Menschen bis jetzt nur ganz wenigen Forschern geglückt, so scheinen die in der Einleitung erhobenen Bedenken gegenüber Rekonvaleszentenserum als Impfstoff zur Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche doch vollauf berechtigt, da anzunehmen ist, daß die Methodik, die Bangbakterien im Blut nachzuweisen, noch am Anfang ihrer Entwicklung steht, und ferner anzunehmen ist, daß die Gefahr der Bangbakteriämie beim durchseuchten Rind in erhöhtem Maße gegeben ist.

Von besonderer Bedeutung erscheint deshalb die Frage, ob und innerhalb welcher Zeit die Bangbakterien frühestens durch die beiden Desinfektionsmittel Formalin und Carbolsäure im Verein mit der bakteriziden Kraft des zu conservierenden Serums abgetötet werden.

Bakterizidie des Rinderserums.

Roch (33) setzte zu 20 ccm Rinderblut bzw. Serum ohne Zusatz von Konservierungsmitteln 1 Öse Kultur von Abortus Bang. Die Proben wurden doppelt angesetzt und einmal bei Kühlraum- und zum anderen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Im Rinderblut wurden nach 58 und im Rinderserum nach 68 Tagen noch lebende Abortusbakterien nachgewiesen. Noch später vorgenommene Prüfungen verliefen negativ, besitzen aber keine Beweiskraft, da das Untersuchungsmaterial inzwischen stark mit anderen Keimen verunreinigt war.

Eine allgemeine Erklärung stammt von Dawanzo (7), in der er behauptet, daß die Bacterizidie des Blutes in allen Fällen größer sei als die des Serums.

Mackie und Finkelstein (29) hat die Normalserumbakterizidie verschiedener Tiere und Menschen gemessen und dabei festgestellt, daß die Wirksamkeit der Sera in folgender Reihenfolge abnahm: Thermolabile Antikörper—Hammel, Rind, Mensch, Ratte, Schwein, Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen, Taube; relativ thermostabile Antikörper—Kaninchen, Ratte, Pferd, Mensch, Schwein, Hammel, Rind, Meerschweinchen, Taube.

In einer Dissertation stellte Wojczewski (40) zur Differenzierung der Bakterien der Brucella-Gruppe mit Tier- und Menschenserum Bakterizidie-Versuche an. Dazu wurden 37 Bangstämme und 3 Melitensisstämme verwendet. Beim Versuch I wurden 20 Stämme mit menschlichem Normalserum geprüft. Eine kleine Öse Kulturmaterial wurde jeweils in 3 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt. ¼ ccm dieser

Testflüssigkeit wurde dann mit ¼ ccm des menschlichen Normalserums zusammengebracht. Bei der Prüfung auf Leberaufgußagarplatten machte sich bereits nach 24 Stunden Aufenthalt des Serums + Kultur im Brutschrank der bakterizide Einfluß des Serums auf die Bakterien bemerkbar, wesentlich stärkere Einwirkung war nach 48 Stunden festzustellen.

Bei Versuch II wurden 37 Bangstämme und 3 Melitensisstämme verwendet. Einem ½ ccm konzentrierten Menschen-, Pferde-, Rinder-, Schweine- und Hammelserum wurde je eine große Öse gleich 1 Tropfen von einer Bakterienaufschwemmung, die aus einer Verreibung von 1 kleinen Öse Reinkultur in 3 ccm Bouillon hergestellt war, zugesetzt. Die große Öse, gefüllt mit genannter Bakterienaufschwemmung, entspricht somit ca. $^1/_{50}$ kleinen Öse gefüllt mit Reinkultur. Aufbewahrung im Brutschrank. Die Prüfung erfolgte wie bei Versuch I und außerdem noch nach 72 Stunden. Nach 24 Stunden stellte Verfasser bei allen Seren und Stämmen eine bakterizide Wirkung fest. Am stärksten war sie bei allen Stämmen beim Menschenserum. Nach 48 Stunden sollen über die Hälfte Stämme im Menschenserum abgetötet worden sein. Nach 72 Stunden sollen beim menschlichen Serum nur noch 2, im Rinderserum dagegen kein überlebender Stamm mehr vorhanden gewesen sein.

Bei Versuch III wurde Rinderserum von einer Kuh verwendet, das mit dem Titer 800 auf Bang agglutinierte. Dieselbe Technik und dieselben 40 Stämme von Versuch II fanden wiederum Anwendung. Neben der Bouillonkontrolle wurde gleichzeitig Rindernormalserum angesetzt.

Nach diesen Versuchen sollen nach 24 Stunden 4 Abortusstämme durch die bakterizide Wirkung des Immunserums und ¾ aller Stämme durch die Bakterizidie des Normalserums **völlig abgetötet** worden sein! Nach 72 Stunden soll beim Normalserum kein Wachstum mehr aufgetreten sein, gegenüber dem Wachstum von 12 Stämmen beim Immunserum.

Zu diesen Versuchen ist zu bemerken, daß sie eine Nachprüfung der Ergebnisse im Tierversuch vermissen lassen. Aehnliche Ergebnisse werden von Moneta (30) erzielt, welcher feststellt, daß die bakterizide Wirkung gegen Brucella- und Melitensisarten zwischen den einzelnen Tierarten und bei Tieren gleicher Art verschieden ist. Die Rindersera waren gegen Melitensis wirksamer als gegen Bang. Die Ziegensera verhielten sich umgekehrt. Die Wirkung war nach 12—24 Stunden gut zu erkennen.

Umfangreiche experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Brucella melitensis und des Bact. abortus gegenüber der Bacterizidie des Blutes von besonders empfänglichen Tieren, sowie einige Beobachtungen über die verschiedenen Eigenschaften der „S“ und „R“-Phase der Brucellaarten stellten Gronchi, V. und A. Constantini (15) an. Die Verfasser kamen zu dem Ergebnis, daß die „R“-Phase weit widerstandsfähiger ist als die „S“-Phase. Es wurde das

Blut von Mensch, Schaf, Rind und Schwein als empfänglichste Typen für die beiden Brucellaarten zu den Untersuchungen benutzt.

Für die Widerstandsfähigkeit der „R"-Phase war es gleichgültig, woher das Blut stammte, auch die allgemeine Widerstandsfähigkeit ging nicht parallel den der Infektionstüchtigkeit entsprechenden Blutwerten.

Brucella melitensis erwies sich stets widerstandsfähiger als das Abortusbakterium.

Die neuesten Studien über die Bakterizidie des Rinderblutes und Rinderserums gegen Rinder- und Schweinebrucella liegen von Irwin, Beack und Bell (21) vor.

Das zu untersuchende Blut stammte von banginfizierten Rindern, das jedoch keinen Titer mehr aufwies und in der Milch waren keine Bakterien mehr nachweisbar. Außerdem wurde noch Blut und Serum von gesunden Rindern zur Untersuchung herangezogen.

Die Versuchsanordnung war folgende:

0,5 ccm des zu prüfenden Blutes oder Serums wurde in ein Röhrchen gegeben, das 0,5 ccm einer 10%igen Bakterienaufschwemmung einer 36- oder 48stündigen Bangkultur enthielt. Nach 24stündiger Bebrütung wurde der Inhalt der Röhrchen mit Agar zusammen in Petrischalen gegossen, die 5—6 Tage zur Beobachtung im Brutschrank blieben. Gleichzeitig legten die Verfasser Kontrollen ohne Blutzugaben an, um, wie bei den Platten, denen sie das zu untersuchende Blut beigesetzt hatten, die Anzahl der Kolonien festzustellen. Dabei zeigte sich, daß die bakterizide Fähigkeit des Blutes der infizierten Tiere geringer war als die der Kontrolltiere. Es hat also den Anschein, als ob bei den Tieren, die die Infektion überstanden hatten, eine Verminderung der bakteriziden Kräfte gegenüber dem Normalblut eingetreten sei. Die gleichen Untersuchungen des Blutserums sowie des Plasmas, dem gewaschene Blutkörperchen zugesetzt waren, zeigten ähnliche Verhältnisse, jedoch war die Bakterizidie des Serums und Plasmas stärker als die des Blutes. Gegenüber Schweinebrucella war eine bakterizide Eigenschaft des Blutes der gesunden wie auch der infizierten Tiere überhaupt nicht festzustellen, während das Serum bakterizide Fähigkeiten, wenn auch in geringerem Maße als gegen Abortus Bang, besaß.

d) Keimtötende Wirkung von Formalin und Karbolsäure.

Jahrzehnte vor und nach der Entdeckung der Brucellose durch Bang und Strieboldt (2) [1896] wurde die Karbolsäure als beliebtes Antiseptikum und Desinfektionsmittel gegen das Verkalben von vielen Seiten und in verschiedener Art und Weise gebraucht.

Unter anderen berichtet Bang (2) von 6 mit Abortus nacheinander beim Decken frisch infizierten Kühen, bei denen im Anschluß an das Verkalben die Nachgeburt zurückblieb. Nach der manuellen Entfernung wurden die Kühe täglich mit Karbolwasser ausgespült. Im

nächsten Jahre wurden die Kühe wieder trächtig, trugen ihre Kälber normal aus und blieben von da ab wieder frei von Abortus.

Schubert (36) versuchte die per os aufgenommenen Abortusbakterien durch periodische Darmdesinfektion abzuschwächen. Tiere erhielten ¼ Jahr lang in jedem Monat an den gleichen 5 Tagen pro Kopf 10 g (= 1 kleiner Eßlöffel) Acid. carbolic. liquefact. in 1 Liter warmen Wassers. Außerdem wurde Dauerdesinfektion im Stall angewendet.

Dieses Verfahren hat Verfasser in einer größeren Zahl verseuchter Bestände mit gutem Erfolg durchgeführt.

Gwatkin (16) versuchte bei Kaninchen mit Formaldehyd (5 ccm einer 3%igen Lösung auf 3000 g Körpergewicht) intravenös gegeben, auf die vorher gesetzte Banginfektion einzuwirken, jedoch mit negativem Erfolg.

Aehnliche Erfahrungen mit Formalin hat Kitselmann (23) gemacht.

Mit negativem Erfolg schließt Arndt (1) seine Dissertation ab. Er versuchte künstlich gesetzte Banginfektionen bei Rindern mit 1%-, 1,5%- und 2%igen Lösungen von Carbolsäure zu beeinflussen. Der Agglutinationstiter blieb in jedem Fall weiterbestehen.

Cordier (6) konnte bei der Prüfung von Phenolpräparaten ebenfalls keinen Einfluß auf die Infektion, auf den Agglutinationstiter und auf die Ausscheidung der Brucellabakterien mit der Milch bei Rindern ausüben.

Die ersten in der Literatur enthaltenen Angaben über die Wirksamkeit der beiden Desinfektionsmittel auf Grund von Laboratoriumsversuchen haben Zwick und Wedemann (43) gemacht.

2,5 % Kresolseifenlösung tötet in 50 Minuten,
5,0 % Kresolseifenlösung tötet in 30 Minuten,
1,0 % Kresolschwefelsäure tötet in 20 Minuten,
2—3 % Kresolschwefelsäure tötet in 10 Minuten,
1,0 % Karbolsäure tötet in 3 Stunden noch nicht,
3,0 % Karbolsäure tötet in 100 Minuten,
2,5 % Formalin tötet in 50 Minuten.

Zur Konservierung des Rekonvaleszentenblutes bei der bösartigen Form der Maul- und Klauenseuche im Jahre 1919/20 wurde nach Ernst (10) in Bayern vor allem Phenol verwendet.

In seinem Lehrbuch berichtet Harms (17), daß die Resistenz der Abortusbakterien gegen äußere Einwirkungen bzw. gegen Desinfektion gering sei. In ½—15 Minuten sollten sie durch 1 % Karbolsäure und durch 3 % Kresolschwefelsäure vernichtet sein.

Roch (33) lieferte eine eingehende Arbeit über „Das Verhalten des Bacterium abortus Bang im Rinderblut und Rinderserum gegenüber Konservierungsmitteln".

20 ccm Serum bzw. Blut wurden zuerst mit 1 Öse Kultur und dann mit einem Konservierungsmittel beschickt.

Nach spätestens 28 Tagen wurden die Abortusbakterien im Blut durch Phenol (0,5 %) und Phenolglyzerin nach spätestens 48 Tagen durch Formalin (pro Liter Serum 50 Tropfen einer 20%igen Formaldehydlösung abgetötet.

Die mit Formalin (0,4 %) versetzten Proben wurden durch Verunreinigungsbakterien überwuchert, so daß der Nachweis der Abortusbakterien nicht mehr einwandfrei gelang.

Die abtötende Kraft der Konservierungsmittel war im Blut allgemein geringer als im Serum. Das Phenol und Phenolglyzerin tötete die Bakterien im Serum innerhalb 18 Tagen ab.

In den mit 0,5 % Phenol versetzten Handelsseren wurden die zugesetzten Abortusbakterien innerhalb 20 Tagen abgetötet.

Unter mehreren anderen Desinfektionsmitteln erzielte Hasskó (18) mit Karbol die geringste Wirkung auf die Bangbakterien. Nach den Untersuchungen von Huddleson, Forest, Howard und Johnsen (19) hielt sich Brucella in phenolhaltigem Serum 3 Wochen.

Bei diesen Angaben wäre es wesentlich zu wissen, wieviel prozentig das Phenol und wie groß die dem Serum zugesetzte Kulturmenge war.

In einer Dissertation berichtet Seyfart (37) über die von ihr angestellten Abtötungsversuche mit Acidum carbolicum liquefactum 1:100,0 gegenüber Abortusbangbakterien nach der Methode Hailer und Richter (zit. nach 37). Nach 3—4 Tagen erfolgte kein Wachstum mehr auf den Prüfnährböden.

Ein Zusatz von Phenol 1:100,0 zum Nährboden ließ keine Bangbakterien mehr aufkommen.

Phenol in 5%iger Konzentration erwies sich nach Donham (9) als bestes Konservierungsmittel für Brucella abortus Antigen.

Formol 0,1—0,5 % war weniger geeignet.

Zum Schluß sei diesen Literaturangaben eine allgemeine Bemerkung angefügt.

Nach Ziegler und Dörle (42) hängt die Wirksamkeit chemotherapeutischer, desinfizierender Mittel mehr von dem Milieu, in dem sich Bakterien oder sonstige Krankheitserreger befinden, ab. Desinfektionsmittel können sehr schnell an bakterizider Kraft verlieren, wenn sie mit kolloidalen Stoffen zusammengebracht werden, z. B. mit Serum, Plasma, Blut u. a. Durch die adsorptive Kraft wird die desinfizierende Kraft ganz oder teilweise gebunden und so der Bindung an die Krankheitserreger mehr oder weniger entzogen.

Die schützende Rolle der Blutelemente, vor allem der Erythrocyten, erlaubt den äußerst empfindlichen Trypanosomen im Mäuseversuch

ungestörtes Wachstum, bei höchsten therapeutischen Dosen eines Desinficiens, das in verdünntem Blut außerhalb des Körpers in 100fach geringerer Konzentration tödlich wirkt.

Die Verfasser ziehen daraus den Schluß, daß ein desinfizierendes Mittel nicht nur in kolloidfreiem, sondern vor allem in adsorptionstüchtigem Material erprobt werden muß.

Eigene Untersuchungen.

Durch eigene Versuche sollte die bakterientötende Wirkung des Rekonvaleszentenserums im Brutschrank und bei Zimmertemperatur festgestellt werden.

Da nach den Literaturangaben anzunehmen war, daß Brucella abortus Bang im Rinderblut nur selten vorkommt, wurden daher zur Ermöglichung umfangreicher Versuche Brucella abortus Bang-Bakterien künstlich in das Serum eingesät.

Gleichzeitig sollte jedes zu den Versuchen benützte Serum das Antikörper von Brucella abortus Bang enthielt, auf das Vorhandensein virulenter Brucella abortus Bang-Bakterien untersucht werden.

Versuch 1.

(Brutschranktemperatur.)

Versuchsanordnung.

Das von mehreren Rindern in größeren Sammelbehältern steril gewonnene, defibrinierte und mit 0,1 % Formalin versetzte Rekonvaleszentenblut wurde, nachdem es 1 Tag mit der Bahn unterwegs war, zur Trennung des Serums von den Blutkörperchen zentrifugiert und das Serum in Flaschen zu je 15 Liter abgefüllt.

Das Serum jeder Flasche wurde auf Keimfreiheit, durch Agglutination sowie Meinicke-Reaktion auf Bangantikörper geprüft. Vor und nach der Konservierung mit 5 ‰igem Phenol wurde für die entsprechende Versuchsreihe eine ausreichende Serummenge aus 53 Flaschen entnommen.

In 53 doppelten Versuchsreihen wurde die abtötende bzw. hemmende Wirkung von fallenden Mengen von formalinisiertem und von formalinisiertem sowie carbolisiertem Serum in gleichbleibender Menge Glyzerin-Traubenzuckerbouillon gegenüber dem Bacterium abortus infectiosi Bang geprüft. Die Menge des Serums und der Glyzerin-Traubenzuckerbouillon in 5 verschiedenen Röhrchen verhielt sich in Kubikzentimeter wie 1:1, 0,5:1, 0,25:1, 0,125:1 und 0,05:1. Zwei Röhrchen von jeder Reihe enthielten je 2 ccm Serum ohne Glyzerin-Traubenzuckerbouillon. Den einzelnen Röhrchen wurde in angegebener Reihenfolge jeweils 1/100, 1/150, 1 200, 1/200, 1/200 NÖ-Kultur von A. B. zugegeben. Das in der Tabelle mit S + bezeichnete Röhrchen enthielt

2 ccm reines Serum, dem 1/100 Normalöse Kultur von Bacterium abortus Bang zugesetzt wurde. Das mit S — bezeichnete Röhrchen enthielt ebenfalls 2 ccm reines Serum ohne Kulturzusatz und diente zur Kontrolle für die Reinheit des Serums.

Ein Röhrchen mit 2 ccm reiner, nicht konservierter Glyzerin-Traubenzuckerbouillon wurde mit 1/200 Normalöse Kultur als Kontrolle für die Wachstumsfähigkeit des in der Aufschwemmung befindlichen Bact. ab. Bang beimpft. Sämtliche Reihen wurden bei 37° Brutschranktemperatur aufbewahrt und nach 24 und 48 Stunden abgelesen, wobei die Zeichen +, + +, + + + in der Tabelle die Wachstumsstärke des Bakt. abort. Bang in den einzelnen Röhrchen angeben.

Die Prüfung erfolgte **kulturell** durch Abimpfung der einzelnen Röhrchen auf Glyzerin-Traubenzuckeragarplatten, die bei 37° C unter aeroben Bedingungen aufbewahrt und zum erstenmal nach 48 Stunden, zum zweitenmal nach 72 Stunden abgelesen wurden. Nach 6 Tagen wurde die Beobachtung abgeschlossen.

Von der Operationsnummer 81 bis 90 wurde von der formalinisierten und carbolisierten Reihe der Verdünnung 0,1:2 und das S + auch noch auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten abgeimpft, die 6 Tage lang bei Kohlensäurespannung und 37° aufbewahrt wurden.

Von der Operationsnummer 83 ab wurde das formalinisierte und carbolisierte Serum nach 48stündiger Bebrütungsdauer durch Verimpfung von 2,0 ccm an ein Meerschweinchen geprüft.

Die Sera von Flasche 3, 4 und 5 der Operationsnummer 83 agglutinierten auf Bact. ab. Bang jeweils mit einem Titer 1:50, 1:100 und 1:200. Von jeder der drei Flaschen wurde 1/4 Liter carbolisiertes Serum zentrifugiert und der in ca. 6 ccm aufgeschwemmte Bodensatz in Einzeldosen von 2 ccm an 3 Meerschweinchen und 2,0 ccm formalinisiertes Serum, das von jeder Flasche bis zum Ergebnis der Agglutination aufbewahrt wurde, an je zwei Meerschweinchen 2 Tage nach dem Zentrifugieren des Blutes verimpft. Den Operationsnummern 83 bis 90 wurden 2 weitere Röhrchen beigefügt. Das eine enthielt 2,0 karbolisierte physiologische NaCl-Lösung und das andere 2,0 carbolisierte Glyzerintraubenzuckerbouillon. Jeder von diesen beiden Flüssigkeiten wurde 1/100 NÖ-Kultur zugesetzt. Nach 48 Stunden Brutschrankaufenthalt wurden sie auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten abgeimpft und bei aeroben Bedingungen und Sauerstoffspannung 6 Tage lang bebrütet. Es sollte hierdurch die reine Carbolwirkung ermittelt werden. Jede der beiden Flüssigkeiten wurde auf die Stärke von 0,5 % carbolisiert.

Die Ergebnisse wurden in Tabelle I (siehe Anhang) festgehalten. Danach läßt sich feststellen, daß das bei Brutschranktemperatur aufbewahrte 0,1‰ig formalinisierte Rinderserum imstande war, das Wachstum von Brucella ab. Bang sowohl in konzentrierter Form als auch in verschiedenen Verdünnungen zu hemmen, nicht aber aufzuheben. Im konzentrierten Serum + 1/100 NÖ-ab. Bang-Kultur trat meist ein schwaches Wachstum auf, bei den Verdünnungen nahm das Wachstum mit fallender Konzentration des Serums zu.

Die Verdünnungen 0,125:1 und 0,5:1 und die Kontrolle mit reiner Glyzerintraubenzuckerbouillon zeigten nach 2 Tagen schon ein mittleres und

nach 3 Tagen stärkstes Wachstum. Die Serumkontrollen ohne Kulturzusatz blieben in der Regel keimfrei.

2. Die in formalinisiertem und carbolisiertem Serum aufgeschwemmten und bei Brutschranktemperatur aufbewahrten Abortus-Bangbakterien wurden in ihrem Wachstum entsprechend der Verdünnung von Serum mit Glyzerin-Traubenzuckerbouillon deutlich gehemmt. **Das konzentrierte carbolisierte Serum konnte aber die Bakterien bereits nach 2 Tagen abtöten.**

3. Die 5,0‰ig carbolisierte Glyzerintraubenzuckerbouillon und die 5,0 ‰ carbolisierte physiologische NaCl tötete die Abortus-Bangbakterien ebenfalls innerhalb 2 Tagen ab, wie die kulturelle Nachprüfung dieser Kontrollen zeigte.

4. Aus den mit den Titern 1:50, 1:100 und 1:200 agglutinierenden Seren von Flaschen 3, 4 und 5 der Operationsnummer 83 konnten keine Abortus-Bakterien herausgezüchtet werden.

Versuch 2.

Vorversuch 1.

Vorversuch mit carbolis. Serum bei Zimmertemperatur von ca. 18° C.

Von den günstigen Ergebnissen des Versuches 1 ausgehend war es nun wichtig, die praktischen Verhältnisse nachzuahmen, da bei der Impfstoffherstellung das Rekonvaleszentenserum nach dem Konservieren nicht bei Brutschrank-, sondern bei Zimmertemperatur stehen gelassen wird.

Von Operationsnummer 86—90 des Versuchs 1 wurden also die Verdünnungen von carbolisiertem Serum mit Glyzerintraubenzuckerbouillon 1:1, 0,5:1 und 0,25:1 und 2,0 Serum + 1/100 NÖ-Kult. in parallel zu den bei Brutschranktemperatur gehaltenen Reihen, bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Prüfung erfolgte nur kulturell auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten. Eine Plattenserie wurde jeweils unter aeroben und die andere parallele Serie unter — mit Hilfe von CO_2 — verminderter Sauerstoffspannung in den Brutschrank gestellt und 6 Tage beobachtet. 1 Röhrchen mit 2,0 physiologischer NaCl-Lösung und 1 Röhrchen mit 2,0 Glyzerintraubenzuckerbouillon, die jeweils 0,25 % carbolisiert wurden, sollten die desinfizierende Wirkung des Carbols in colloidfreiem bzw. kolloidarmen Medium angeben.

Die Tabelle IIa gibt hierüber folgenden Aufschluß (siehe Tabelle Nr. IIa im Anhang).

Die Verdünnungen von carbolisiertem Serum konnten die zugesetzten Bakterien in ihrem Wachstum bei Zimmertemperatur von ca. 18° C innerhalb 2 Tagen nur noch schwach hemmen. Von einem Wachstumsunterschied bei den einzelnen Verdünnungen war kaum mehr etwas zu sehen.

Aus einem Teil der Röhrchen von carbolisiertem Serum + 1/100 NÖ konnte weder unter aëroben noch unter sauerstoffarmen Bedingungen Bangbakterien gezüchtet werden. Aus dem größeren Teil dieser Serumröhrchen trat aber auf den Glyzerintraubenzuckeragarplatten **ein, wenn auch stark verzögertes, schwaches Bangwachstum auf.**

Die 0,25 ‰ carbolisierte physiologische NaCl-Lösung und Glyzerintraubenzuckerbouillon vermochten die Bangbakterien ebenfalls nicht abzutöten.

Versuch 2.

Vorversuch 2 bei ca. 18° C mit carbol. Serum.

Die Ergebnisse des Vorversuches 1 machten es notwendig, diesen Versuch mit Serum aus 6 Flaschen der Operationsnummer 97 mit 1/1000 NÖ zu wiederholen.

Der Vorversuch 1 wurde zur Kontrolle in vereinfachter Form (siehe Tabelle IIb) nochmals parallel angesetzt.

Die Prüfung erfolgte nach 2 Tagen nur kulturell auf Traubenzuckerglyzerinagarplatten unter aëroben und sauerstoffarmen Bedingungen im Brutschrank; Beobachtungszeit 6 Tage.

Ergebnis von Vorversuch 2.

Aus sämtlichen 6 Seren, die in je einer Versuchsreihe mit 1/100 NÖ und 1/1000 NÖ Kultur beimpft wurden, konnten nach 2 Tagen keine Abortusbangbakterien mehr herausgezüchtet werden.

Ein Wachstumsunterschied bei den mit 1/1000 NÖ-Kultur beimpften Verdünnungen von Serum mit Glyzerintraubenzuckerbouillon war kaum mehr zu erkennen.

Gegenüberstellung von Vorversuch 1 und Vorversuch 2.

Bei Vorversuch 1 waren es nur einzelne mit 1/100 NÖ beimpfte Serumproben, in denen die Bangbakterien scheinbar abgetötet waren. Bei Vorversuch 2 konnten aus sämtlichen Seren, die mit 1/100 bzw. 1/1000 NÖ-Kultur versetzt waren, keine Abortusbangbakterien mehr gezüchtet werden. Die Unregelmäßigkeit in den Ergebnissen dieser beiden Versuche legte die Vermutung nahe, daß irgendwelche technischen Fehler vorlagen, die in der Nährbodenherstellung oder bei der Beimpfung der Medien als Folge einer mangelhaften Verreibung von Kulturmaterial in der physiologischen NaCl-Lösung, wodurch größere Bakterienklümpchen in die Serumproben mit hineinkamen, oder aber, daß sie in der Verschiedenartigkeit der bakteriziden Wirkung der Sera begründet sein konnten. Die ungleichen Ergebnisse waren der Anlaß, diese Versuche unter möglichster Ausschaltung aller vermutlichen Fehlerquellen in verschiedener Richtung zu erweitern und auszubauen.

Versuch 2.

Vorversuch 3.

Für den Wert der Meerschweinchenversuche war es wichtig, mit voll virulenten Abortus Bangstämmen zu arbeiten. Zu diesem Zweck wurde ein ganz frischer Stamm aus einer Eihaut herausgezüchtet und mit dem Namen VE bezeichnet.

Die beiden Stämme VE und der schon bei früheren Versuchen benützte Stamm R 55 wurden nun auf ihre Pathogenität geprüft. Dazu wurden von jedem Stamm verschiedene Kulturverdünnungen hergestellt und Bruchteile von einer Normalöse Kultur an Meerschweinchen verimpft. Es verhielten sich 1 NÖ (Normalöse Bangkultur) zu ccm physiol. Kochsalzlösung wie:

I. 1:10,0, davon erhielten je 2 Meerschweinchen 0,1 ccm sk. = 1/100 NÖ,

II. 1:100,0, davon erhielten je 2 Meerschweinchen 0,1 ccm sk. = 1/1000 NÖ,

III. 1:1000,0, davon erhielten je 2 Meerschweinchen 0,1 ccm sk. = 1/10000 NÖ,

IV. 1:10000,0, davon erhielten je 2 Meerschweinchen 0,1 ccm sk. = 1/100000 NÖ,

0,1 ccm einer dieser Verdünnungen wurden jeweils zur leichteren Injektion zu 2,0 ccm Glyc.-Trz. gegeben.

Nach 4 Wochen erfolgte die Tötung der Meerschweinchen. Durch Agglutination ihres Serums: 1:50, 1:100 und 1:200 und durch Züchtung aus der Milz auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten wurde die Diagnose Bang-infektion bei den einzelnen Meerschweinchen gesichert.

Ergebnis des Vorversuches 3.

Sämtliche Meerschweinchen agglutinierten mit dem Titer 1:200. Auch der Kulturversuch fiel jeweils positiv aus.

Hauptversuch 2.

(Mit carbolisiertem Serum bei Zimmertemperatur von ca. 18°.)

Versuchsanordnung.

Von 10 Operationsnummern wurden 9mal von je 5 Flaschen und einmal von je 2 Flaschen Serumproben entnommen. Von agglutinatorisch bang-positiven Seren wurde auch noch zum Zwecke der Verimpfung an je 2 Meerschweinchen eine ausreichende Menge nicht carbolisiertes Serum zurückgestellt.

Jedes Serum wurde zweimal bei verschiedenen Verdünnungen mit Glyzerintraubenzuckerbouillon und mit mengenmäßig und nach Art verschiedenen Kultursätzen

1. von Stamm R 55 und
2. von Stamm VE

auf seine keimtötende Wirkung geprüft.

Verhältnis von Serum zu Glyzerintraubenzuckerbouillon + Bruchteile einer NÖ (Normalöse) Kultur.
(Die Verhältniszahlen geben die Zahl der ccm an.)

Vers. 1. 2:2 + 1/100 NÖ Kultur,
2,0 Serum (S +) + 1/100 NÖ Kultur,

Vers. 2. 2:2 + 1/1000 NÖ Kultur,
1:2 + 1/1500 NÖ Kultur,
0,5:2 + 1/2000 NÖ Kultur,
2,0 Serum (S +) + 1/1000 NÖ Kultur.

Vers. 3. 2:2 + 1/10000 NÖ Kultur,
1:2 + 1/15000 NÖ Kultur,
0,5:2 + 1/20000 NÖ Kultur,
2,0 Serum (S +) + 1/10000 NÖ Kultur.

Vers. 4. 2:2 + 1/100000 NÖ Kultur,
1:2 + 1/150000 NÖ Kultur.

Kontrollen:

Zu Vers.	ccm phys. NaCl	ccm Glyz.Tr.B. 0,5 % carbolisiert + Bruchteil einer NÖ (Normalöse)	ccm Glyz.Tr.B. nicht carbolisiert Kultur.
1	2,0 + 1/100 NÖ	2,0 + 1/100 NÖ	2,0 + 1/200 NÖ
2	2,0 + 1/1000 NÖ	2,0 + 1/1000 NÖ	2,0 + 1/2000 NÖ
3	2,0 + 1/10000 NÖ	2,0 + 1/10000 NÖ	2,0 + 1/20000 NÖ
4	2,0 + 1/100000 NÖ	2,0 + 1/100000 NÖ	2,0 + 1/200000 NÖ

Die beiden carbolisierten Kontrollen sollten die keimtötende Wirkung des Carbols in kolloidfreien bzw. colloidarmen Medien, die nicht carbolisierte Glyzerin-Traubenzucker-Bouillon-Kontrolle sollte die Wachstumsstärke bei den einzelnen Kulturzusätzen und die Reinheit der Kulturaufschwemmung anzeigen.

Die Prüfung bei sämtlichen Proben erfolgte von Operationsnummer 104 bis 133 nach 2, 6, 12 und gegebenenfalls nach 18 Tagen, bei den Proben mit konzentriertem Serum (S +) kulturell auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten. Die Platten wurden von sämtlichen Proben bei Brutschranktemperatur unter aëroben Bedingungen aufbewahrt. Die Proben mit konzentriertem Serum, mit carb. physiologischer NaCl-Lösung und die mit carbolisierter Glyzerintraubenzuckerbouillon wurden nach 2 Tagen außerdem noch auf Platten abgezüchtet, die bei CO_2-Spannung im Brutschrank aufbewahrt wurden. Von Operationsnummer 126—133 wurden außerdem noch die ganzen Serummengen 2,0 ccm + 1/1000 NÖ nach 2 Tagen je an ein Meerschweinchen verimpft. Nach 5 Wochen erfolgte die Tötung. Die Diagnose Banginfektion wurde durch Agglutination des Serums und durch Züchtung aus der Milz gesichert.

Die konzentrierte Serumprobe 2,0 ccm + Kulturmenge war die wichtigste, denn sie sollte den wirklichen Verhältnissen, wie sie bei der Serumaufbewahrung vorliegen, entsprechen.

Die Serumverdünnungen sollten wiederum nur die hemmende Wirkung bestätigen.

Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß bei den verschiedenen Serumverdünnungen nach 2 Tagen im Bangwachstum gegenüber der entsprechenden Kontrolle mit reiner Glyzerintraubenzuckerbouillon kaum noch eine Hemmung auftrat; ein Hemmungsunterschied zwischen den einzelnen Verdünnungen war nicht zu erkennen.

Prüfung der konzentrierten Serumproben (S +) von Operationsnummer 104, 110 und 111, beimpft mit Stamm R 55.

Von 24 Proben + 1/100 NÖ Kultur trat 4mal,
von 24 Proben + 1/1000 NÖ Kultur trat 6mal,
von 24 Proben + 1/10000 NÖ Kultur trat 3 mal
nach 2 Tagen noch schwaches Bangwachstum auf.

Serumproben beimpft mit Stamm VE.

Von 24 Proben + 1/100 NÖ Kultur trat 6mal,
von 24 Proben + 1/1000 NÖ Kultur trat 4mal,
von 24 Proben + 1/10000 NÖ Kultur trat 2mal

nach 2 Tagen noch schwaches Bangwachstum auf.

Die Prüfung der Serumproben erfolgte noch nach 6 und 12 Tagen. Die dazu benützten Glyzerintraubenzuckeragarplatten blieben keimfrei; eine Prüfung nach 18 Tagen erübrigte sich demnach.

Trotz sorgfältigen Arbeitens bei Aufschwemmung von Kulturmaterial durch gründliches Verreiben am Rande der physiologischen Kochsalzlösung und trotz genauester Dosierung der einzelnen Bruchteile einer NÖ Kultur kam es vor, daß zum Beispiel in Serum + 1 10000 NÖ nach 2 Tagen durch Kulturversuch noch Bangbakterien nachgewiesen werden konnten, während dies im gleichen Serum + 1 100 oder + 1 1000 NÖ nicht möglich war. Logischerweise müßte es gerade umgekehrt sein. Verwechslungen der einzelnen Kulturverdünnungen wurden auf Grund der ungleichen Ergebnisse des Vorversuches durch besondere Sicherungsmaßnahmen ausgeschlossen.

Die Ergebnisse bei der Prüfung der konzentrierten Serumproben (S +) der Operationsnummern 117 und 121 schienen endlich den erhofften Erfolg gebracht zu haben, nämlich, daß von irgendeiner Kulturverdünnung ab die Bangbakterien abgetötet werden, denn:

von 10 Proben + 1/100 NÖ Kultur von Stamm R 55 und
von 10 Proben + 1/100 NÖ Kultur von Stamm VE

trat je einmal nach 2 Tagen schwaches Bangwachstum auf. Bei allen übrigen Serumproben schienen die Bakterien abgetötet zu sein.

Bei den Operationsnummern 123 bis 133 mit

50 Serumproben + 1/100 NÖ,
50 Serumproben + 1/1000 NÖ,
50 Serumproben + 1/10000 NÖ,

kamen aber wieder ganz ähnliche Ergebnisse heraus wie bei Operationsnummer 104, 110 und 111, so daß es sich erübrigt, genaue Zahlen anzugeben.

Die Meerschweinchen-Impfversuche von Operationsnummern 126—133 bestätigten die Ergebnisse der Operationsnummern 117—121, nämlich, daß bereits 1/1000 NÖ Kultur nach 2 Tagen im konservierten Serum abgetötet wird, nicht.

Der Zeitpunkt, zu welchem die Abortus-Bangbakterien frühestens abgetötet wurden, mußte also durch weitere Versuche zwischen dem 2. und 6. Tag gesucht werden.

Versuch 3

(mit carbolisiertem Serum).

Versuchsanordnung.

Dieser Versuch stellt eine wesentliche Vereinfachung der vorhergehenden Versuche dar. Es wurden hier vor allem die Verdünnungen von Serum mit Glyzerin-Traubenzuckerbouillon weggelassen und von 54 Serumproben je

2,0 + 1/100 NÖ, + 1/1000 NÖ und + 1/10000 NÖ Kultur von Bakt. abortus Bang und zwar zuerst von Stamm R 55 und dann von Stamm VE auf seine keimtötende Wirkung nach 2, 4, 6 und gegebenenfalls auch nach 12 Tagen geprüft.

Als Kontrollen dienten wiederum bei jeder Operationsnummer 2,0 physiol. NaCl-Lösung, 2,0 Glyzerin-Traubenzuckerbouillon, beide 0,5 % carbolisiert unter Beimpfung mit 1/100, 1/1000 bzw. 1/10000 NÖ Kultur und als Wachstumskontrolle 2,0 Glyzerin-Traubenzuckerbouillon nichtcarbolisiert mit 1/200, 1/2000 bzw. 1/20000 NÖ Kultur.

Die Prüfung erfolgte bei sämtlichen Proben nur kulturell auf Glyzerin-Traubenzuckeragarplatten. Nach 2 Tagen wurde im Gegensatz zum vorhergehenden Versuch, bei denen nur Spuren von dem zu prüfenden Medium auf den Nährboden gebracht wurden, jetzt ein ganzer Tropfen massiv ausgestrichen.

Nach 4 und 6 und gegebenenfalls nach 12 und stichprobenweise auch nach 3 Tagen wurden sämtliche Proben eine Stunde bei 1800 Touren zentrifugiert und der Bodensatz auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten abgeimpft. Dadurch sollte, trotz Verzichts auf den Meerschweinchenversuch eine möglichst große Sicherheit in der Feststellung der noch lebenden Bangbakterien gewährleistet werden.

Die Prüfnährböden unterlagen nach der Beimpfung bei nur aëroben Wachstumsbedingungen im Brutschrank einer Beobachtungszeit von 6 Tagen.

Aus Tabelle III ist folgendes Ergebnis abzulesen:

Bei sämtlichen Serumproben trat nach 2 Tagen noch Bangwachstum, aber gegenüber ihren entsprechenden Wachstumskontrollen mit nichtcarbolisierter Glyzerintraubenzuckerbouillon, wie aus der Tabelle III zu ersehen ist, eine starke Hemmung auf. Das Wachstum trat auf den mit Material aus den Serumproben beimpften Nährböden 2—3 Tage später ein als bei jenen, die mit Material aus der nicht carbolisierten Glyzerintraubenzuckerbouillonkontrolle beimpft waren.

Die bakterientötende Wirkung des konservierten Serums erscheint noch größer, wenn man bedenkt, daß das Serum im Verhältnis zur entsprechenden nicht konservierten Wachstumskontrolle doppelt soviel Bakterien erhalten hat.

Nach 3 Tagen konnten aus dem Bodensatz der zentrifugierten Serumproben teilweise viel mehr Bangkolonien herausgezüchtet werden, als nach 2 Tagen aus den nichtzentrifugierten.

von 54 S-Proben + 1/100 NÖ Kultur von **Stamm R** 55 trat 18mal,
von 54 S-Proben + 1/1000 NÖ Kultur von **Stamm R** 55 trat 13mal,
von 54 S-Proben + 1/10000 NÖ Kultur von **Stamm R** 55 trat 5mal,
nach 4 Tagen noch Bangwachstum auf.

Von 54 S-Proben + 1/100 NÖ Kultur von **Stamm VE** trat 11mal,
von 54 S-Proben + 1/1000 NÖ Kultur von **Stamm VE** trat 8mal,
von 54 S-Proben + 1/10000 NÖ Kultur von **Stamm VE** trat 7mal,
nach 4 Tagen noch Bangwachstum auf.

Da jedes Serum zuerst mit Stamm R 55 und dann noch mit Stamm VE geprüft wurde, ist die Feststellung noch wissenswert, daß nach 4 Tagen Wachstum von beiden Stämmen fast nur in bestimmten Seren aufgetreten ist, das mit einem gewissen Unterschied in der keimtötenden Wirkung der Seren in Zusammenhang stehen dürfte.

Nach 6 Tagen ist von 108 Serumproben nur noch einmal Wachstum aufgetreten.

Um zu einem eindeutigen Ergebnis zu gelangen, war es also notwendig, die den Serumproben zuzusetzende Kulturmenge weiterhin zu verringern. Ob dies den Verhältnissen bei einer natürlichen Infektion entsprach und die Keimzahl noch genügend war, mußte die Keimzählung entscheiden.

Vorversuch zu Versuch 4.

Versuchsanordnung.

Bei der Keimzählung wurde die Beobachtung gemacht, daß die Bakterien nicht in so homogener Weise in der Kulturaufschwemmung verteilt waren, wie man mit dem unbewaffneten Auge glaubte feststellen zu können, sondern, daß zahlreiche mit der Lupe schon deutlich wahrnehmbare Klümpchen vorhanden waren.

Um eine möglichst einwandfreie Keimzählung zu erreichen, wurde daher die Aufschwemmung der Bakterien durch ein steriles Papier-Faltenfilter geschickt, das die Klümpchen zurückhielt. Demeter (8) beschreibt ausführlich mehrere Keimzählverfahren. Er kommt dabei zu dem Schluß, daß die Beziehung der bei der direkten mikroskopischen Methode (Einzelkeimzählung) erhaltenen Werte zu den durch das indirekte Plattenverfahren erhaltenen ungefähr 3:1 ist. Von sämtlichen Keimzählmethoden erschien die direkte nach Breed (8) speziell für die Abortusbangbakterien als die geeignetste.

Die Apparatur besteht

1. aus einem Mikroskop,
2. Objektträgern,
3. einer Schablone mit 4—5 Quadraten von 1 cm Seitenlänge,
4. einer Kapillarpipette zum Abmessen von 0,01 ccm einer Flüssigkeit und
5. einer rechtwinklig abgebogenen Nadel.

Das Gesichtsfeld des Mikroskopes wurde mittels Objektmikrometer so eingestellt, daß es einen Durchmesser von 0,205 mm hatte. Der Objektträger wurde mittels konzentrierter Schwefelsäure entfettet und dann auf ebener Grundlage auf die Schablone gelegt. Mit der Kapillarpipette wurden dann 0,01 ccm von der Abortus-Bangkulturverdünnung auf 1 Quadrat gegeben und mit der rechtwinklig abgebogenen Nadel auf der Fläche gleichmäßig und genau mit den Rändern des Quadrats abschneidend, verteilt. Damit letzteres müheloser und möglichst einwandfrei gelang, erwies es sich als sehr zweckmäßig, die Ränder des auf der Schablone vorgeschriebenen Quadrats mit einem Diamanten auf dem Objektträger einzuritzen. Der Ausstrich wurde nun an der Luft getrocknet und in der Flamme fixiert und alsdann 5 Minuten lang mit wiederholt filtriertem Carbolgentianaviolett gefärbt. Die Abortus-Bangbakterien erschienen hierbei ganz dunkelviolett und wurden durch die Färbung außerdem noch scheinbar aufgebläht, was die Zählung sehr erleichterte.

Die Bakterien wurden zuerst in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Beim Antrocknen von 0,01 ccm dieser Flüssigkeit an den Objekt-

träger bildeten sich aber Kochsalzkristalle, die eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien verhinderten. Sehr schön gleichmäßig verteilten sich die Bakterien im Präparat, wenn man sie in destilliertem Wasser aufschwemmte.

Wenn z. B. ein Bakterium durchschnittlich im Gesichtsfeld festgestellt wurde, mußte folgende Berechnung angestellt werden, um die Bakterienzahl in 1 ccm zu erhalten:

Das Gesichtsfeld ist 1 3000 Teil des auf dem Objektträger ausgestrichenen Quadrats. In 1 ccm befinden sich also 3000 × 100 = 300 000 Bakterien.

Um einen guten Durchschnitt zu erhalten, wurden von 3 Verdünnungen von Kultur mit Aqua dest. im Verhältnis 1 NÖ : 1000 ccm je 1 Ausstrich gefärbt und von jedem 30 Felder ausgezählt.

Durch Agglutination und Gramfärbung wurden die zur Aufschwemmung benützten Abortus-Bangkulturen zuvor auf ihre Reinheit und ihre Identität geprüft.

Ergebnis.

Bei Auszählung von 30 Gesichtsfeldern eines Präparates, das aus der Verdünnung 1 NÖ : 1000 ccm Aqua dest. hergestellt war, konnte ein Durchschnitt von 23—25 Keimen pro Gesichtsfeld ermittelt werden. Es befanden sich also in 1 ccm von dieser Lösung 23 × 3000 × 100 = rund 7 000 000 Keime und in 0,1 ccm = 1/10 000 NÖ = 700 000 Keime.

Von dieser Keimzahl läßt sich diejenige sämtlicher anderen Bruchteile einer Normal-Öse berechnen:

1/100 NÖ = 70 000 000 Keime,
1/1000 NÖ = 7 000 000 Keime,
1/100000 NÖ = 70 000 Keime.

Nach Angabe von Introzzi (20) enthält 1 Normalöse = 2 Milliarden Keime. Ob er das direkte oder das indirekte Keimzählverfahren angewandt hat, ist aus dem Referat nicht zu ersehen.

Versuch 4.

(Mit carbolisiertem Serum, 4 Tage bei Zimmertemperatur.)

Versuchsanordnung.

Durch Filtrieren der Kulturaufschwemmung gelang es endlich, die unliebsamen Bakterienklümpchen zurückzuhalten, wobei die Verdünnung makroskopisch betrachtet nur wenig an Dichte verlor. 2 ccm Serum mit 1/100 000 NÖ Kultur (70 000 Keimen) beimpft, stellt immerhin noch eine recht massive Infektion dar, die weit über die natürlichen Verhältnisse hinausgehen dürfte. Einen wertvollen Vergleich ermöglichen 2 Literaturangaben über das zahlenmäßige Vorkommen von Brucella ab. Bakterien in der Milch.

Bang, O. und Bendixen, H. (3) haben 15 Kühe mit latenter Abortusbakterieninfektion im Euter mehrere Laktationsperioden hindurch untersucht und eine Keimzahl von wenigen bis zu etwa 30 000 pro Kubikzentimeter in der Milch festgestellt.

Stockmayer (38) stellte mit dem indirekten Plattenverfahren an einer Reihe von Versuchskühen, die künstlich mit Brucella abortus infiziert waren,

durch laufende Untersuchungen im Kubikzentimeter Milch von 0—10 000 Keime fest.

Von 93 Flaschen mit je 15 Liter Rekonvaleszentenserum wurden Proben von je mindestens 4 ccm entnommen. Davon wurde zu 2 ccm Serum in einem Röhrchen 1/10 000 NÖ Kultur und zu den anderen 2 ccm 1/100 000 NÖ Kultur gegeben. Die eine Hälfte der Seren von jeder Operationsnummer wurde mit Stamm R 55 und die andere Hälfte mit Stamm VE beimpft.

Für jeden Stamm wurden als Wachstumskontrollen jeder Operationsnummer 2 Röhrchen mit reiner Glyzerintraubenzuckerbouillon beigefügt, von denen das eine mit 1/20 000 NÖ-Kultur und das andere mit 1/200 000 NÖ-Kultur beimpft wurde.

Die Prüfung erfolgte nach 4tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur.

1. Kulturell.

93 Proben, die mit 1/10 000 NÖ-Kultur und 63 Proben der Operationsnummern 170—174 und 184, die mit 1/100 000 NÖ-Kultur versetzt waren, wurden zentrifugiert und die Bodensätze massiv auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten abgeimpft. 30 Proben der Operationsnummern 179 und 181, denen 1/100 000 NÖ zugesetzt war, wurden in nicht zentrifugiertem Zustande geprüft.

2. Durch den Impfversuch.

Von 53 Proben der Operationsnummern 179, 181 und 184, die mit 1/100 000 NÖ beimpft waren, wurden je 1 Meerschweinchen **mit der bei der Maul- und Klauenseucheimpfung vorgeschriebenen Rinderdosis von 0,5 ccm pro kg Körpergewicht geimpft.** Von je 30 dieser Proben der Operationsnummern 179 und 181 wurden außerdem noch ungefähr 3,0 ccm je kg Körpergewicht an je ein Meerschweinchen verimpft.

Von 23 Proben der Operationsnummer 184, die mit 1/10 000 NÖ-Kultur beimpft waren, wurde je 1 Meerschweinchen mit 0,5 ccm pro kg Körpergewicht geimpft.

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte bei Operationsnummer 179 und 181 nach 36 bzw. nach 35 Tagen und bei Operationsnummer 184 nach 45 Tagen. Durch Agglutination des Meerschweinchenserums 1:50, 1:100, 1:200 und durch Züchtungsversuch aus der Milz auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten sollte die Diagnose Banginfektion bzw. Bangfreiheit gesichert werden.

Ergebnis (siehe Tabelle IV—VII).

In 93 konservierten Rekonvaleszentenserumproben, die mit 1/10 000 NÖ und in 93 Proben die mit 1/100 000 NÖ abortus Bang-Kultur versetzt waren, konnten kulturell nach 4tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur keine Abortusbangbakterien mehr nachgewiesen werden.

Im Meerschweinchenimpfversuch konnten aus 53 mit 1/100 000 NÖ-Kultur beimpften Serumproben weder bei einfacher noch bei sechsfacher Rinderdosis und aus 23 mit 1/10 000 NÖ-Kultur beschickten Serumproben bei einfacher Rinderdosis keine Brucella abortus-Bakterien mehr gefunden werden.

Die Kontrollen in Glyzerintraubenzuckerbouillon sind in jedem Falle angegangen.

Versuch 5.

Versuchsanordnung.

Sämtliche Serumproben der vorausgegangenen Versuche wurden in Verdünnungen von 1:50, 1:100 und 1:200 auf Agglutination gegen Ab. Bang geprüft. Die bangpositiv agglutinierenden wurden im Meerschweinchenimpfversuch auf Gehalt an virulenten Bangbakterien untersucht.

Die Seren aus Flaschen von Operationsnummern agglutinierten wie folgt:

Op.-Nr.	83,	Fl. 3	mit	dem	Titer	1:50,
„	83,	„ 4	„	„	„	1:100,
„	83,	„ 5	„	„	„	1:200,
„	121,	„ 1	„	„	„	1:100,
„	121,	„ 2	„	„	„	1:200,
„	121,	„ 4	„	„	„	1:100,
„	121,	„ 5	„	„	„	1:50,
„	181,	„ 3	„	„	„	1:50,
„	181,	„ 8	„	„	„	1:50,
„	181,	„ 9–15	„	„	„	1:200,
„	184,	„ 14	„	„	„	1:200,
„	184,	„ 15	„	„	„	1:200,
„	184,	„ 16	„	„	„	1:50.

alle übrigen untersuchten Seren ergaben keine Agglutination.

Von jeder der Flaschen 3, 4 und 5 der Op.-Nr. 83, von jeder der Flaschen 1, 2, 4 und 5 der Op.-Nr. 121 und von jeder der Flaschen 14, 15 und 16 der Op.-Nr. 184 wurden an 2 Meerschweinchen je 2,0 ccm 0,1 ‰ formalisiertes Serum und an 2 Meerschweinchen je 2,0 ccm Bodensatz von ¼ Liter 0,1 ‰ formalinisiertem + 5 ‰ carbolisiertem Serum, das bei ca. 1800 Touren eine Stunde lang zentrifugiert wurde, nach 2tägiger Einwirkung des Formalins bzw. 1tägiger Einwirkung des Carbols verimpft. Ca. 10 ccm von jedem 0,1 ‰ formalinisiertem Serum der Flaschen 1–15 der Op.-Nr. 181, also insgesamt 150 ccm, wurden eine Stunde lang bei ca. 1800 Touren zentrifugiert und an 2 Meerschweinchen je 2,0 ccm Bodensatz verimpft.

Vom Gesamtzentrifugat gewonnen von je ½ Liter carbolisiertem Serum aus den Flaschen 3, 8, 9 15 der Oper.-Nr. 181 wurden an 3 Meerschweinchen je 2,0 ccm subkutan und an 2 Meerschweinchen je 1,0 ccm subkutan nach 1tägiger Einwirkung des Carbols verimpft.

Vom Gesamtzentrifugat, gewonnen von je ½ Liter eintägig carbolisiertem Serum aus den Flaschen 14, 15 und 16 der Op.-Nr. 184, wurden 6 Meerschweinchen mit je 2,0 ccm subkutan geimpft, um auf alle Fälle etwa im Serum vorhandene Abortusbangbakterien zu ermitteln.

Mit carbolisiertem Serum aus den Flaschen 3, 8, 9–15 der Op.-Nr. 181 und aus den Flaschen 14, 15 und 16 der Op.-Nr. 184 wurde nach 4tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur je ein Meerschweinchen von ca. 300 g mit einfacher Dosis = 0,2 ccm, wie sie für das Rind bei der Maul- und

Klauenseuchesschutzimpfung pro kg Körpergewicht vorgeschrieben ist, und je eines mit ungefähr doppelter = 0,5 ccm und je eines mit ungefähr vier- bis fünffacher Dosis = 1,0 ccm subkutan geimpft.

Diese Impfungen sollten einen Anhaltspunkt geben, ob die im Serum vorhandenen Abortus Bangbakterien bei ein oder gar mehrfacher Rinderdosis überhaupt imstande sind, eine Infektion hervorzurufen.

Die Meerschweinchen wurden bei Op.-Nr. 83 nach 40, bei Op.-Nr. 121 nach 35, bei Oper.-Nr. 181 nach 49 bzw. 43 und bei Oper.-Nr. 184 nach 48 bzw. 45 Tagen getötet und in der bei früheren Untersuchungen üblichen Weise auf Bangbakterien bzw. Bangantikörper untersucht.

Ergebnis.

Nur aus Flasche 4 und 5 der Oper.-Nr. 121 konnten durch den Meerschweinchenversuch im Rekonvaleszentenserum natürlicherweise vorhandene Abortus-Bangbakterien nachgewiesen werden. Der Impfversuch war positiv bei je einem Meerschweinchen, das mit formalinisiertem, nichtzentrifugiertem Serum bzw. mit carbolisiertem, nicht zentrifugiertem Serum geimpft worden war. Bei einem weiteren Meerschweinchen wurde das positive Impfergebnis mit dem Zentrifugat aus carbolisiertem Serum erzielt.

Zusammenfassung.

Meine Untersuchungen haben ergeben, daß das formalinisierte Rekonvaleszentenserum bei zweitägiger Aufbewahrung im Brutschrank die in einer Menge von 1/100 NÖ zu 2 ccm Serum zugesetzten Kultur von Brucella abortus Bang in ihrem Wachstum nur hemmen konnten, während das carbolisierte Serum die Bakterien im gleichen Zeitraum abtötete.

Bei zweitägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur genügte die bakterizide Wirkung des mit Formalin und Carbol konservierten Serums für eine vollkommene Abtötung nicht. Es trat lediglich eine Wachstumshemmung auf. Auch bei stärkeren Kulturverdünnungen von 1/1000 und 1/10 000 NÖ gelang die einwandfreie Abtötung erst nach 6 Tagen.

Bei Benutzung filtrierten Kulturmaterials wurde Brucella abortus Bang bei Zusatz von 1/10 000 und 1/100 000 NÖ-Kultur zu 2 ccm frisch konserviertem Rekonvaleszentenserum bereits nach 4 Tagen abgetötet.

Da die direkte Keimzählung ergab, daß 1/10 000 NÖ = 700 000 und 1/100 000 NÖ = rund 70 000 Keime enthält, lag unter den gewählten Versuchsbedingungen eine so massive Einsaat vor wie sie beim Rinde im Blut überhaupt nicht oder nur sehr selten vorkommen dürfte. Dieser Schluß ist berechtigt, wenn man zum Vergleiche die Höchstzahlen von Bangbakterien in der Milch, wie sie von Bang (3) und Stockmayer (38) ermittelt wurden, heranzieht. Dazu kommt weiter, daß das allenfalls bakterienhaltige Blut eines Tieres im gemeinsamen Sammelbehälter mit dem Blute zahlreicher anderer Tiere ver-

mengt wird und daß auch das Zentrifugieren des Blutes einen Teil der Bakterien aus dem Serum entfernt, so daß die Gefahr eines massiven Bakterienvorkommens im Rekonvaleszentenserum bei der Impfstoffherstellung gering sein dürfte.

Immerhin ist es bei einer Operationsnummer von 18 Flaschen mit je 15 Litern Rekonvaleszentenserum gelungen, durch den Meerschweinchenimpfversuch aus 2 Flaschen Brucella abortus Bang nachzuweisen. Dieser bei 2 Serumproben geglückte **Nachweis mahnt zur Vorsicht bei der Verwendung ungenügend lange konservierten Rekonvaleszentenserums.** Diese Vorsicht erscheint um so begründeter, wenn man berücksichtigt, daß unter praktischen Verhältnissen **die Infektion auch nur eines Tieres mit Brucella abortus Bang genügt, um allenfalls den ganzen Tierbestand zu gefährden.** Die Bevorzugung von Großbetrieben bei Gewinnung von Blut für die Herstellung von Rekonvaleszentenserum erhöht die Möglichkeit der gelegentlichen Verarbeitung eines Serums, in dem Brucella abortus Bang enthalten sein kann. **Es erscheint daher zweckmäßig und notwendig, das Rekonvaleszentenserum nicht vor dem 5. Tage nach erfolgter Konservierung mit 0,5 % Carbolsäure zu verwenden und damit eine Gefahrenquelle auszuschalten, deren Bedeutung nicht überschätzt, aber auch keineswegs unterschätzt werden sollte.**

Da die Prüfung der Keimfreiheit des Rekonvaleszentenserums, die für die Ausschaltung unliebsamer Impfzufälle unerläßlich ist, mindestens 4 Tage beansprucht, besteht bei ihrer Durchführung die Gewähr, daß das geprüfte Serum eine Uebertragung der Brucellose des Rindes ausschließt.

Schlußsätze.

Durch eigene Versuche sind die Angaben in der Literatur über das Vorkommen von Brucella abortus Bang im Rinderblut bestätigt worden.

Eine Weiterverbreitung der Brucellose ist demnach durch Rekonvaleszentenblut oder durch zu kurz konserviertes Serum möglich.

Für die Abtötung von Brucella abortus Bang im carbolisierten Rekonvaleszentenserum genügt eine Zeit von 4 Tagen.

Es muß daher gefordert werden, daß Rekonvaleszentenserum, das aus Brucellosebeständen stammt, nicht unmittelbar nach der Gewinnung, sondern erst nach mindestens 4tägiger Konservierung abgegeben werden darf.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. B e c k für die Ueberlassung des Themas, für die Bereitstellung des Materials sowie für die gütige Anleitung und Beratung während meiner Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1. **Arndt, E.:** Intravenöse Infusionen von Karbolsäure als Behandlungsversuche bei der Bangbakterieninfektion der Rinder. Inaug.-Diss. Hannover 1933.
2. **Bang, B.:** Das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Arch. f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde, Bd. 33, S. 312.
3. **Bang, O.** und **Bendixen, H.** (Kopenhagen): Untersuchungen über latente Euterinfektionen beim Rind, hervorgerufen durch Abortusbakterien. Zeitschr. f. Infekt.-Krankh. der Haustiere, **42**, 81—113, 1932.
4. **Büchli, K., Mededeelingen.** Van de Brucella Bang Commisie Nr. 8. Mitscheidung van smetstof (Bac. ab. Bang bij voor de dekking geïmiuniseerde vaarzen. (Zijdschr. Diergeneeskde. **60**, 961—711, 781—791 (1933).
5. **Cotton:** Neue Untersuchungen über seuchenhaften Abortus (Bang'sche Krankheit). Münchn. Tierärztl. Wschr. **86**, 1935, S. 191. Zusammenfassender Bericht von Jean Verge in Rev. gén. med. vét. **43**, 577 (1934). Uebersetzt von E. Heidegger, München.
6. **Cordier, G., et J. Menager:** Essais de chimiothérapie dans les brucelloses bovines. (Versuche zur Chematherapie der Brucellose.) Rev. Méd. vét. **89**, 81—101 (1937). Ref. Jber. Vet. Med., Jg. **61**, 1937, S. 655.
7. **Davanzo, J.:** Recherches sur le bactericide du sang. (Boll. Soc. Ini. Micr. Sez. Ital. 3, 463, 1931.) Zbl. f. B. Abt. Ref. Bd. **104**, 1932, S. 308.
8. **Demeter, K. I.:** Bakteriologische Untersuchungsmethoden von Milch, Milcherzeugnissen, Molkereistoffen und Versandmaterial. Verlag Urban u. Schwarzenberg 1934, S. 21.
9. **Donham, O. R.** and **Fitch, C. P.:** A study of preservatives for vapidest Brucella abortus antigen. (J. amer. vet. med. Assoc. **85**, 782—787, 1934.) Ref. Zbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 119, 1935, S. 402.
10. **Ernst:** Zur bayerischen Notimpfung gegen die bösartige Maul- und Klauenseuche. MTW. 1920, S. 6161.
11. **Fitch, C. P., Bihop, Lucille, M.** and **Kelly, Margaret, D. (St. Paul):** The isolation of Brucella abortus from theo blood-stream of cattle. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 34, 696—698 (1936). Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. 124, 1937, S. 161
12. **Frieß, F.:** Ueber das Vorkommen des Bazillus abortus Bang im Blute. Inaug.-Diss. München 1929.

13. **Fraas** (Vaihingen): Ein weiterer Fall von Bang-Bakterieninfektion beim Menschen. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene **41**, 433—434, 1931.

14. **Good, E. S.**: Investigations of the etiology of inf. abortion of cows and mares (Kenntuky stat. bull. 165, Ref. in Exp. stat. Vec. Vol. XXVII, p. 581). Ref. Jber. Vet. Med., Jg. **33**, 1913, S. 96.

15. **Gronchi, V.** und **Constantini, A.**: Richerche sul comportamento, delle Br. melitensis abortus all'azione battericida del sangue di animali ritenuti diversamente recettivi alle inferzioni brucellari e erlcune, osservazioni e indagini sui caratteri differenziali delle fasi „S" et „R" delle brucella. (Untersuchungen über das Verhalten der Br. melitensis und abortus gegenüber der Bactericidie des Blutes von besonders empfänglichen Tieren, sowie über einige Beobachtungen über die verschiedenen Eigenschaften der „S"- und „R"-Phase der Brucella-Arten.) (Instit. di Pat. Gen. e Batteriol., Univ., Padova.) Boll. Ist. sieroter. mulan. **14**, 145 bis 162 (1935). Ref. Jber. Vet. Med. Jg. **57**, 1935, S. 456.

16. **Gwatkin, R.** (Dep. et Vet. Sc., Ontavio Res. Found, Toronto Ont.): Formaldehyd and mercurochrome in the treatment of rabbits infected with Brucella abortus. (J. amer. vet. med. Assoc. 77 (NS. **30**), 743—745, 1930. Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref., Bd. 103, S. 446—447.

17. **Harms**: „Lehrbuch der Tierärztlichen Geburtshilfe". 5. Aufl. 1920, S. 141 und 148—50.

18. **Hasskó, A.** (Budapest): Reagenzglasversuche über die Wirkung chemotherapeutischer Mittel auf die Bangbazillen. Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1931, II. 519—520.

19. **Huddleson, J., Forest** and **Heward, W., Johnson**: Study of anti-hog cholera serum and virus for the presence of brucella. (Contr. Brucella Labarat. Mechigan State Exp. Stat., East Lansing.) J. amer. vet. med. Assoc. **79**, 635—637 (1931).

20. **Introzzi, P.** (Pavia): La vaccinoterapia della felbre melitense. Policlimico Soz. prat. 1934, 1701—1705. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. **117**, 1935, S. 344.

21. **Irwin, M. R., B. A. Beach** and **F. N. Bell**: Studies on the bactericidal action of bovine whole blood and serum towards Brucella abortus and Brucella suis. Dep. of. Genet. Veterin. Science a. Agricult. Bakteriol., Agricult. Exp. Stat., Univ. of. Wisconsin Madison). J. inf. Diss. **58**, 15—22, 1936.

22. **King, M. J.** and **Caldwell, D. W.** (Mount, Mc, Greger, N. Y.): Brucella abortus in milk supply as a source of agglutinins in human serc. (Americ. J. med. Sci. **178**, 115—121, 1929.) Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. **98**, 1930.

23. **Kitselmann, C. H.** (Dept. of Vet. Med., Kansas, Agric. Exp. Sta., Manhattan, Kan.): The use of various agents in an attempt to influenze the Brucella agglutinin content of blood. (J. Amer. vet. med. Assoc. **84**, NS. 37, 603—608, 1934.) Ref. Zbl. f. Bakt., 1. Abt. Ref., Bd. 118, 1935, S. 482.

24. **Krüger:** Ueber das Vorkommen von Bangbakterien im Fleisch geschlachteter Rinder. DTW. **40**, 1932, S. 481.

25. **Kurtze, H.** (Laboratorium Schlachthof Leipzig): Ueber das Vorkommen von Abortusbangbakterien in den Harnorganen, insbesondere in der weißen Fleckniere des Kalbes. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. 46, 255—256, 1936.) Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. 123, 1936, S. 207.

26. **Lübke, A.** (Kiel): Beiträge zur Frage der Banginfektion des Kalbes. Arch. Tierheilkd. 68, 233—249. 1934.

27. **Lübke, A.** (Kiel): Ueber das Vorkommen von Bangbakterien im Blut von Kühen aus banginfizierten Beständen. Z. Inf.Krankh. d. Haustiere, **47**, 240—244, 1935.

28. **Mäder, K.** (Eutin): Ueber den Nachweis des Bazillus Abortus Bang im Blut natürlich und künstlich infizierter Rinder. Vet. Med. Diss. München 1931.

29. **Mackie, T. J.** and **Finkelstein, M. H.** (Bakt. Dep., Univ. Edinbourgh): The bactericidins of normal serum: Their characters occurence in various animals and the suspensibility of different bacteria to their action. J. of Hyg. 32, 1—24, 1932. Ref. Zbl. f. B. 1. Abt. Ref. Bd. **108**, 1933, S. 305.

30 **Moneta, E.**: Il differente potere battericidia del sieri normali di bovini, ovini, caprini ed equini vispette al. B. di Bang e quelle di Bruce studiati in vitro Suo valore diagnostico differenziale. Ref. Jber. über Vet. Med., Jg. **53**, 1933, S. 582.

31. **Oßberger, J.**: Das Vorkommen des Abortus Bang im Blute. Vet. Med. Inaug. Diss., München 1930.

32. **Zit. n. Poppe, K.**: Der infektiöse Abortus des Rindes (Banginfektion). Handbuch der pathog. Mikroorg. von Kolle, Kraus, Uhlenhuth, Bd. VI, 2, 1929, S. 693.

33. **Roch, W.**: Das Verhalten des Bakterium abortus Bang im Rinderblut und Rinderserum gegenüber den Konservierungsmitteln. Inaug.-Diss., München 1930.

34. **Rust, L.**: Ueber Versuche, das Bakterium abortus Bang im Blut von Schlachtrindern nachzuweisen unter Berücksichtigung des pathologisch-anatomischen Schlachtbefundes. Inaug.-Diss. Leipzig, 1937.

35. **Schmidt, W.**: Neuere Untersuchungen über den Bang'schen Abortus. DTW. **40**, 1932, S. 702.

36. **Schubert:** Die Karbolsäure als Prophylaktikum in der Abortusbekämpfung. Wien. Tierärztl. Monatschr. 1929, 16, 297). Ref. Zentrbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. **96**, 1930, S. 79.

37. **Seyfarth, M.**: Versuche zur Bekämpfung des Abortus Bang der Rinder mittels chemischer Präparate. Inaug. Diss. Berlin 1934.

38. **Stockmayer, W.**: Kulturelle Untersuchung über die Ausscheidung von Bangbazillen mit der Milch. Ztschr. f. Inf. Krankh. d. Haust. **44**, 105—128, 1933.

39. **Tartarano, G.** (Bukarest): Recherches sur l'infection par le bacille de Bang dans une ferme. C. d. Soc. Biol. 109, 1305, 1932. Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. 110, 1933, S. 15.

40. **Wojczewski, B.:** Med. Dent. Diss. Breslau 1933.

41. **Zeller, H.** und **Beller, K.:** Infektionsversuche mit Brucella-Stämmen bei Jungbullen. MTW. 1933, **41**, S. 554—556.

42. **Ziegler, K.** und **Dörle, M.** (Freiburg i. Br.): Bakterien, Chemotherapeutika und Milieu. Z. exp. Med. **72**, 197—210, 1930. Ref. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. Ref. Bd. 99, S. 321

43. **Zwick** und **Wedemann:** Biologische Untersuchungen über den Abortusbazillus. Arb. Kais. Ges.-A. 1913, Bd. 43, S. 130. Ref. Handb. d. Pathog. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. **VI**, 2, S. 699.

Lebenslauf.

Am 25. Mai 1911 wurde ich, Rudolf Grözinger, als Sohn des Eugen Grözinger in Hochdorf, Kr. Vaihingen/Enz geboren.

Nach 3 Volksschulklassen in Hochdorf besuchte ich vom Frühjahr 1920 bis 1926 die Realschule in Korntal mit Abschluß der mittleren Reife und anschließend die Oberrealschule in Stuttgart mit Ablegung des Abiturs im Frühjahr 1930.

Im Sommersemester 1930 begann ich mit dem Studium der Tierheilkunde. Die ersten 5 Semester studierte ich an der Universität München, im 6. Semester an der Universität Leipzig, im 7. Semester in Wien, im 8. und 9. Semester wiederum in München. Im Wintersemester 1934/35 legte ich das tierärztliche Staatsexamen in München ab. Nach vierteljährlichem Praktikum im Frühjahr 1935 am Schlachthof in München übernahm ich verschiedene Praxisvertretungen. Vom 22. Juli 1935 bis 8. Juni 1936 war ich am Laboratorium des Württ. Tierärztlichen Landesuntersuchungsamtes in Stuttgart als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter beschäftigt. Am 9. Juni rückte ich zu einer freiwilligen achtwöchigen Uebung beim Ergänzungsbattl. 27, 3. (M.G.) Komp. in Ludwigsburg ein und wurde am 1. August 1936 als überzähliger Gefreiter d. Res. entlassen. Im Anschluß daran übernahm ich wiederum verschiedene Praxisvertretungen. Vom 16. Januar bis 15. Juni 1937 war ich als Assistent beim Oberamtstierarzt in Schwäb. Hall zur Einführung in den oberamtstierärztlichen Staatsdienst.

Nach zwei weiteren Praxisvertretungen übte ich vom 30. August 1937 als Veterinärgefreiter d. Res. beim Inf.-Regt. 119 Bad Canstatt mit der Beförderung am 11. September 1937 zum Veterinärunteroffizier bis zur Entlassung am 26. September 1937 als Veterinärwachtmeister der Reserve.

Vom 27. September 1937 bis 19. November 1937 assistierte bzw. vertrat ich Herrn Stadttierarzt Dr. Holzwarth in Backnang. Vom 24. November bis 24. Dezember 1937 beendigte ich meine Assistentenzeit beim Oberamtstierarzt in Schwäb. Hall.

Seit 15. Januar 1938 bin ich nun mit meiner Promotionsarbeit beschäftigt.

Schleißheim, den 12. Mai 1938.

R. Grözinger.

Tabelle I.

Abimpfung von flüssigen Nährboden auf Glyz.-Traubenz.-Agar-Platten nach 2tägiger Aufbewahrung desselben im Brutschr. (37° C)

Medium für Aufschwemmung des Bakt. ab. Bang	flüssig: Gl.Tr.B. fest: Trbz.Ag.Pl.	Zeit der Ablsg. nach Stunden	Wachstum bei Verdünnungen des formalinisierten bzw. formalinis. und carbolisierten Serums mit Glyzerin-Traubenzucker-Bouillon im flüss. Medium bzw. auf Glyzerin-Traubenzuckeragarplatten.							Kontrollen		
										Glyz.-Trbz.-Bouillon	Glyz. Trz.-Bouill. carbolisiert	Physiol. NaCl-Lösung
			Zugesetzte Kulturmenge zum flüssigen Medium (Bruchteil einer Normalöse)									
			1/100 2:2	1/150 1:2	1/200 0,5:2	1/200 0,25:2	1/200 1:2	1/100 2:0	2:0	1/200 2,0	1 100 2,0	1,100 2,0
Formalinisiertes Serum + Glyzerin-Traubenzuckerbouillon	flüssig	24	—	+	++	++	++	—	—	++	—	—
		48	+	++	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—
	fest	48	+	+	++	++	++	+?	—	++	—	—
		72	++	++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—
Formalinisiertes und carbolisiertes Serum + Glyzerin-Traubenzuckerbouillon	flüssig	24	—	+	+	++	++	—	—			
		48	—	+	+	++	+++	—	—			
	fest	48	—	+	+	++	+++	—	—			
		72	+	+	++	+++	+++	—	—			

Stamm: R 55. **Tabelle II.**

(Abgestufte Kulturmengen bei einzelnen Verdünnungen siehe Tabelle I.)

Abimpfung vom flüss. auf festen Nährboden nach:	Medium für Aufschw. des Bac. ab. B.	Wachstum bei Verd.:	I. 1/100. Normal-Öse						II. 1/1000. Normal-Öse						III. 1/10 000. Normal-Öse					
			Züchtung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten:																	
			a. Aërob					b. CO_2-Spann.	a. Aërob					b. CO_2-Spann.	a. Aërob					b. CO_2-Spann.
			Zeiten der Ablesung (in Tagen):																	
			2	3	4	5	6	6	2	3	4	5	6	6	2	3	4	5	6	6
2 Tagen	Carb. Ser. + Glyc. Tr. B. im Verhältnis	2:2	++	+++	+++	+++	+++		+	++	++	++	++		+?	+?	+	+	+	
		1:2							+	++	++	++	++		+	+	+	+	+	
		0,5:2							+	++	++	++	++		+	+	+	+	+	
		2:0(S+)	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+
6 Tagen	Phys. NaCl. (carb.)	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
12 Tagen	Glyc. Tr. B. (carb.)	2	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
18 Tagen	Kontr. Glyc.Tr.B.	2	++	+++	+++	+++	+++		++	++	++	++	++		+	++	++	++	++	
	Carb. Ser.	2:0(S+)	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
	„ „	„	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
	„ „	„	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	

Stamm: VE. Züchtung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten:

			2	3	4	5	6	6	2	3	4	5	6	6	2	3	4	5	6	6
2 Tagen	Carb. Ser. + Glyc. Tr. B. im Verhältnis	2:2	++	+++	+++	+++	+++		+	++	++	++	++		+?	+?	+	+	+	
		1:2							+	++	++	++	++		+	+	+	+	+	
		0,5:2							+	++	++	++	++		+	+	+	+	+	
		2:0(S+)	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+
6 Tagen	Phys. NaCl. (carb.)	2	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
12 Tagen	Glyc. Tr. B. (carb.)	2	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
18 Tagen	Kontr. Glyc.Tr.B.	2	++	+++	+++	+++	+++		++	+++	+++	+++	+++		+	++	++	++	++	
	Carb. Ser.	2:0(S+)	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
	„ „	„	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	
	„ „	„	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	

Tabelle IIa.

Wachstum in:		Zugesetzte Kulturmenge zum flüss. Medium (Bruchteil 1 Normalöse)	Verdünnung von Serum mit Glyc.-Trz.-Bouillon im Verhältnis	Prüfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten nach 2tägigem Stehenlassen des flüssigen Mediums bei Zimmertemperatur von ca. 18° C				
				a) aërob				b) CO_2-Spannung
				Zeiten der Ablesung nach Stunden				
				48	72	96	120	96
Carbolisiertem Rekonvaleszentenserum + Glyz. Traubenz. Bouill.		1/100	2:2	+	++	+++	+++	++
		1/150	1:2	+	+++	+++	+++	++
		1/200	0,5:2	++	++¬	¬+¬	¬¬+	+¬+
		1/100	2:0(S+)	—	¬	+	¬	+
				Kontrollen				
Kontrollen	Glyc. Trz. Bouill.	1/200	2,0	+¬	¬+¬	¬++	¬++	nicht geprüft
	Glyc. Trz. B. carbol.	1/100	2,0	+	+	+	+	+
	Phys. NaCl-lösung carbol.	1/100	2,0	+	+	+	+	+

Tabelle IIb.

Wachstum in:		Zugesetzte Kulturmenge zum flüss. Medium (Bruchteil 1 Normalöse)			Prüfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten nach 2tägigem Stehenlassen des flüssigen Mediums bei Zimmertemperatur von ca. 18° C				
					a) aërob				b) CO_2-Spannung
					Zeiten der Ablesung nach Stunden				
					48	72	96	120	96
Carbolisiertem Rekonvaleszentenserum + Glyz. Traubenz. Bouill.			1:1000	2:2	(+)	+	++	++	+
			1:1500	1:2	(+)	++	++	++	+
			1:2000	0,5:2	+	++	++	++	++
			1:1000	2:0(S+)	—	—	—	—	—
					Kontrollen:				
Kontrollen	Glyc. Trz. Bouill.		1/2000	2,0	+	+ +	+ +	+ +	nicht geprüft
	Glyc. Trz. B. + carbol		1/1000	2,0	+	+	+	+	+
	Phys. NaCl-lösung + carbol		1/1000	2,0	+	+	+	+	+
	Carbol. Rekonvaleszentenser.		1:100	2,0(S+)	—	—	—	—	—

Tabelle III.

Stamm	Abimpfung vom carbol. Serum auf Glyc.Trz.Agar-Platten nach Tagen	2,0 ccm carbolisiertes Serum			Kontrollen: Glyc. Trz. Bouillon 5 % carbolisiert			Physiol. NaCl-Lösg. 5 % carbolisiert			Glyz. Trz. Bouillon		
		zugesetzte Kulturmenge (Bruchteil 1 Normalöse)											
		1/100	1/1000	1/10 000	1/100	1/1000	1/10 000	1/100	1/1000	1/10 000	1/200	1/2000	1/20 000
R 55	Tg.												
	2 nicht zentrifug.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	++++	+++	++
	3 zentrifug.	++	+	+									
	4 do.	+	(+)	(+)									
	6 do.	—	—	—									
	12 do.	—	—	—									
VE	2 nicht zentrifug.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	+++	+++	++
	3 zentrifug.	++	+	+									
	4 do.	+	(+)	(+)									
	6 do.	—	—	—									
	12 do.	—	—	—									

Tabelle IV.

Op.-Nr.	Nr. der Serumprobe		Wachstum im carbolisierten 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Stamm:									R 55		
170	Zugesetzte Kulturmenge	1/10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	–
	(Brucht. 1 NÖ.)	1/100 000	—	—	—	—	—		—	—	—	–
	Stamm:				R 55					VE		
174	Zugesetzte Kulturmenge	1/10 000		—	—	—	—	—	—	—	—	–
	(Brucht. 1 NÖ.)	1/100 000	—	—	—	—	—		—	—	—	–

Stamm		Wachstum in den Kontrollen mit Glyzerintraubenzucker-bouillon R 55	VE
Zugesetzte Kulturmenge (Brucht. 1 NÖ)	1/20 000	++	++
	1/200 000	+	+

rum nach 4 tägigem Stehen lassen bei Zimmer-Temperatur von 18° C. Prüfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten.

	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
												VE							
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	-	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	-	—	—	—	—	—	—

Tabelle V.

Op.-Nr. 179.

M			Vorbehandlung						Erg.		NÖ		Kultur-versuch
Nr.	Gewicht g	Nr. der Flasche	Impf. mit S+ 1/100 000 NÖ (n. 4 Tg. b. ZT.)	Zeit	Stamm	Art der Impfung	Zeit der Tötung	†	Kult.	Aggl.	1/10 000 Z	1/100 000 NZ	
			Impfversuch mit S+ 1/100 000 NÖ										
3066	320	1 S+	0,16	25. 3.	R 55	sc.	30. 4.		—	—	—	—	Abimpfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten, nachdem S+ - Kultur 4 Tage bei Zimmertemperatur von ca. 18° C gestanden hat.
3067	310	1 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3068	350	2 S+	0,175	„	„	„	„		—	—	—	—	
3069	300	2 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3070	320	3 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	—	
3071	360	3 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3072	300	4 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	—	
3073	320	4 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3074	320	5 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	—	
3075	350	5 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3076	300	6 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	—	
3077	300	6 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3078	290	7 S+	0,14	„	„	„		17. 4.	—	—	—	—	
3079	370	7 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3080	350	8 S+	0,175	„	VE	„	„		—	—	—	—	
3081	300	8 S+	1,0	„	„	„		17. 4.	—	—	—	—	
3082	320	9 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	—	
3083	300	9 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3084	300	10 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	—	
3085	290	10 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3086	320	11 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	—	
3087	310	11 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3088	300	12 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	—	
3089	370	12 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3090	290	13 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	—	
3091	290	13 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3092	330	14 S+	0,17	„	„	„		17. 4.	—	—	—	—	
3093	290	14 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
3094	320	15 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	—	
3095	300	15 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	

R 55 Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
VE Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
Z = zentrifugiert; NZ = nicht zentrifugiert; M = Meerschweinchen; NÖ = Normalöse;
† = verendet.

Tabelle VI.

Op.-Nr. 181.

Impfversuch mit S+ 1/100 000 NÖ												Kultur-versuch		
M			Vorbehandlung						Erg.		NÖ		
Nr.	Gewicht g	Nr. der Flasche	Impf. mit S+ 1/100 000 NÖ (n. 4 Tg. b. ZT.)	Zeit	Stamm	Art der Impfung	Zeit der Tötung	†	Kult.	Aggl.	1/10 000 Z	1/100 000 Z	
123	320	1 S+	1,0	26. 3.	R 55	sc.	30. 4.		—	—	—	—	Abimpfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten, nachdem S+ - Kultur 4 Tage bei Zimmertemperatur von ca. 18° C gestanden hat.
124	350	1 S+	0,175	„	„	„	„		—	—	—	—	
125	320	2 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
126	410	2 S+	0,22	„	„	„	„		—	—	—	—	
127	340	3 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
128	380	3 S+	0,19	„	„	„	„		—	—	—	—	
129	310	4 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
130	360	4 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	—	
131	310	5 S+	1,0	„	„	„		30. 3.	—	—	—	—	
132	390	5 S+	0,2	„	„	„	„		—	—	—	—	
133	330	6 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
134	350	6 S+	0,175	„	„	„	„		—	—	—	—	
135	330	7 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
136	380	7 S+	0,19	„	„	„	„		—	—	—	—	
137	300	8 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
138	430	8 S+	0,22	„	„	„	„		—	—	—	—	
139	290	9 S+	1,0	„	VE	„		17. 4.	—	—	—	—	
140	360	9 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	—	
141	330	10 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
142	340	10 S+	0,17	„	„	„	„		—	—	—	—	
143	320	11 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
144	340	11 S+	0,17	„	„	„		22. 4.	—	—	—	—	
145	320	12 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
146	390	12 S+	0,2	„	„	„	„		—	—	—	—	
147	310	13 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
148	360	13 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	—	
205	300	14 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
206	360	14 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	—	
207	340	15 S+	1,0	„	„	„	„		—	—	—	—	
208	360	15 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	—	

R 55 Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
VE Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
Z = zentrifugiert; NZ = nicht zentrifugiert; M = Meerschweinchen; NÖ = Normalöse;
† = verendet.

Tabelle VII.

Op.-Nr. 184.

Impfversuch mit S+ 1/10 000 NÖ											Kultur-versuch
M			Vorbehandlung						Erg.		NÖ	
Nr.	Gewicht g	Nr. der Flasche	Impf. mit S+ 1/10 000 NÖ	Zeit	Stamm	Art der Impfung	Zeit der Tötung	†	Kult.	Aggl.	1/10 000 Z	
3150	300	1 S+	0,15	28. 3.	R 55	sc.	12. 5.		—	—	—	
3152	330	2 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
3154	300	3 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3156	300	4 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3158	300	5 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3160	330	6 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
3162	290	7 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
3164	270	8 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
3166	270	9 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
3168	250	10 S+	0,13	„	„	„	„		—	—	—	
3170	350	11 S+	0,18	„	VE	„	„		—	—	—	
3172	290	12 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3174	390	13 S+	0,2	„	„	„	„		—	—	—	
3176	320	14 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
3177	300	15 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3180	290	16 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3182	270	17 S+	0,14	„	„	„		29. 4.	—	—	—	
3184	260	18 S+	0,13	„	„	„	„		—	—	—	
3186	270	19 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
3188	290	20 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
3190	270	21 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
3192	310	22 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
3194	280	23 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	

Abimpfung auf Glyzerintraubenzuckeragarplatten, nachdem S+ - Kultur 4 Tage bei Zimmertemperatur von ca. 18° C gestanden hat.

R 55 Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
VE Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
Z = zentrifugiert; NZ = nicht zentrifugiert; M = Meerschweinchen; NÖ = Normalöse; † = verendet.

Tabelle VIII.

).-Nr. 184.

Impfversuch mit S+ 1/100 000 NÖ											Kultur-versuch
M			Vorbehandlung					Erg.		NÖ	
Nr.	Gewicht g	Nr. der Flasche	1/10 000 NÖ (n. 4 Tg. b. ZT.) (n. 4 Tg. b. ZT.)	Zeit	Stamm	Art der Impfung	Zeit der Tötung	†	Kult.	Aggl.	1/100 000 NZ	
49	340	1 S+	0,17	28. 3.	R 55	sc.	12. 5.		—	—	—	Abimpfung auf Glyzerinraubenzuckeragarplatten, nachdem S+ - Kultur 4 Tage bei Zimmertemperatur von ca. 18° C gestanden hat.
51	330	2 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
53	350	3 S+	0,175	„	„	„	„		—	—	—	
55	330	4 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
57	290	5 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
59	300	6 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
61	400	7 S+	0,2	„	„	„	„		—	—	—	
63	300	8 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
65	320	9 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
67	270	10 S+	0,14	„	„	„	„		—	—	—	
69	350	11 S+	0,18	„	VE	„	„		—	—	—	
71	310	12 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
73	350	13 S+	0,18	„	„	„	„		—	—	—	
75	370	14 S+	0,19	„	„	„	„		—	—	—	
78	340	15 S+	0,17	„	„	„	„		—	—	—	
79	290	16 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
81	290	17 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
83	250	18 S+	0,13	„	„	„	„		—	—	—	
85	310	19 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
87	290	20 S+	0,15	„	„	„	„		—	—	—	
89	300	21 S+	0,15	„	„	„	„				—	
91	310	22 S+	0,16	„	„	„	„		—	—	—	
93	330	23 S+	0,17	„	„	„	„		—	—	—	

55 Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: ++; 1/200 000. NÖ: +.
E Kontr. Gl.Trz.B. 1/20 000. NÖ: +++; 1/200 000. NÖ: +.
= zentrifugiert; NZ =nicht zentrifugiert; M = Meerschweinchen; NÖ =Normalöse;
† = verendet.